



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

**AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE UM PROTOCOLO RÁPIDO DE IMUNOTERAPIA
ALERGÉNIO-ESPECÍFICA EM CÃES ATÓPICOS**

SUSANA ISABEL RIBEIRO DAVID

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

ORIENTADORA

Doutor José Henrique Duarte Correia

Doutora Ana Mafalda Gonçalves Xavier

Doutora Ana Mafalda Gonçalves Xavier

Félix Lourenço

Félix Lourenço

Doutora Solange Judite Roque Coelho

Alves Gil

2014

Lisboa



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

**AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE UM PROTOCOLO RÁPIDO DE IMUNOTERAPIA
ALERGÉNIO-ESPECÍFICA EM CÃES ATÓPICOS**

SUSANA ISABEL RIBEIRO DAVID

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

ORIENTADORA

Doutor José Henrique Duarte Correia

Doutora Ana Mafalda Gonçalves Xavier Félix
Lourenço

Doutora Ana Mafalda Gonçalves Xavier

Félix Lourenço

Doutora Solange Judite Roque Coelho

Alves Gil

2014

Lisboa

A todos os que partiram cedo de mais.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar quero agradecer à minha orientadora. Obrigada, por tudo o que me ensinou, pela confiança em mim depositada, pelas palavras de alento e motivação, pelo apoio e conselhos sempre sábios e oportunos...

À Professora Berta São Braz pela disponibilidade, apoio e orientação na condução de todo o trabalho experimental.

À Engenheira Adriana Belas pelo apoio e conselhos durante o trabalho experimental.

Ao Professor Telmo Nunes pela preciosa ajuda com a estatística.

Aos meus pais. Pelos sacrifícios que fizeram para que eu pudesse estar hoje aqui.

À Virgínia, porque, às vezes, os silêncios explicam mais que muitas palavras.... Obrigada por me deixares ter a irmã que não tive e pelos momentos “Jack”.... Desculpa pelos, muitos, momentos de desespero absoluto.

À Catarina Costa. Obrigada por me relembrares como é bom competir com os melhores.

À Carolina Gonçalves, a caloiira bem-disposta e faladora a quem nem sempre dei a merecida atenção.

Ao grupo de trabalho do Hospital Escolar Veterinário da FMV-UL e a toda a equipa da VETCOR – Serviços Veterinários por todos os ensinamentos e provas de amizade.

A todos os meus colegas estagiários, em especial, à Diana Mascarenhas e à Ana Vaz Rico, por toda a amizade, ajuda e apoio.

A todos os cães e respectivos donos que participaram no trabalho experimental “Avaliação da eficácia de um protocolo rápido de imunoterapia alérgico-específica em cães atópicos” sem vós nada disto seria possível.

Por último mas não menos importantes, aos amigos e companheiros de uma vida. Foi a angústia e a revolta por vos ver a serem tratados pela metade que me deram a motivação e força necessárias para chegar até aqui sempre com a certeza de que não quero ficar por aqui.

RESUMO

“AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE UM PROTOCOLO RÁPIDO DE IMUNOTERAPIA ALERGÊNIO-ESPECÍFICA EM CÃES ATÓPICOS”

A dermatite atópica canina (DAc), doença cutânea com grande expressão no Cão, tem um forte impacto na qualidade de vida dos pacientes. A imunoterapia alergénio-específica (ITAE), que tem uma eficácia entre os 60 e 80% e uma baixa incidência de efeitos secundários, é a única forma de tratamento da DAc capaz de induzir um estado de verdadeira remissão clínica. Os protocolos rápidos permitem abreviar a fase de indução e assim obter uma resposta clínica mais precoce. O estado de tolerância imunitária induzido pela ITAE é alcançado através de um desvio para uma resposta de tipo T_H1 , produção de outras classes de imunoglobulinas e estimulação de linfócitos T reguladores. Os mediadores inflamatórios produzidos são determinantes para o sucesso terapêutico. A eficácia de um protocolo de ITAE pode ser avaliada através do valor de CADESI-03, grau de prurido e pelos níveis séricos de mediadores inflamatórios. Destes, pode destacar-se a IL-10, citocina muito importante na homeostasia imunitária em indivíduos saudáveis e que desempenha um papel crucial na maioria dos mecanismos de acção da ITAE. Neste trabalho, 14 cães atópicos foram submetidos a um protocolo rápido de ITAE e reavaliados passadas 4 e 12 semanas. Diferenças estatisticamente significativas no grau de prurido ($p \leq 0,05$) foram registadas 4 semanas após o início do tratamento e às 12 semanas para o valor de CADESI-03 ($p \leq 0,05$). As concentrações séricas de IL-10 revelaram-se inconclusivas. A resposta à ITAE parece ser tão mais precoce quanto mais abreviada for a fase de indução do protocolo.

Palavras-chave: dermatite atópica canina; imunoterapia alergénio-específica; CADESI-03; prurido; IL-10.

ABSTRACT

"EVALUATING THE EFFECTIVENESS OF AN RUSH ALLERGEN-SPECIFIC IMMUNOTHERAPY PROTOCOL IN ATOPIC DOGS"

Canine atopic dermatitis (cAD), is a very prevalent skin disease in dogs and has a strong impact on patient quality of life. Allergen-specific immunotherapy (ASIT) is efficacious in about 60 to 80% and presents a low incidence of side effects. Also, is the only treatment for cAD with ability to induce a state of true clinical remission. Rush protocols allow shorter induction phases and thereby earlier clinical responses. The state of immune tolerance induced by ASIT is achieved by a shift to a T_H1 like response, production of other immunoglobulin classes and stimulation of regulatory T lymphocytes. The produced inflammatory mediators are crucial to therapeutic success. The effectiveness of an ASIT protocol can be assessed by the CADESI-03 score, pruritus level and serum levels of inflammatory mediators. In particular we can highlight IL-10, important cytokine in the immune homeostasis in healthy individuals, which plays a crucial role in the most ASIT mechanisms of action. In this study, 14 atopic dogs performed a rush ASIT protocol and were re-evaluated after 4 and 12 weeks. Statistically significant differences in pruritus level ($p \leq 0.05$) were recorded 4 weeks after treatment initiation and after 12 weeks for the CADESI-03 score ($p \leq 0.05$). Serum levels of IL-10 were inconclusive. Response to ASIT seems to be achieved earlier with the shorten induction phase of the rush protocol.

Key-words: canine atopic dermatitis; allergen-specific immunotherapy; CADESI-03; pruritus; IL-10.

ÍNDICE GERAL

Resumo	ii
Abstract	iii
Índice geral	v
Lista de figuras	vi
Lista de tabelas	vi
Lista de gráficos	vi
Lista de abreviaturas e símbolos.....	vii
Introdução.....	1
CAPÍTULO I – Relatório do estágio curricular	3
1. Hospital Escolar Veterinário da FMV-UTL.....	3
2. VETCOR – Serviços Veterinários.....	5
CAPÍTULO II – Avaliação da eficácia de um protocolo rápido de imunoterapia alérgico-específica em cães atópicos.....	7
1. Dermatite atópica canina.....	7
1.1. DAC: uma doença multifactorial	8
1.2. Fisiopatologia: a teoria actual	11
1.3. Padrão lesional e diagnóstico.....	12
1.4. Tratamento.....	17
2. Imunoterapia alérgico-específica – ITAE	17
2.1. Indicações.....	19
2.2. Eficácia.....	19
2.3. Protocolo	21
2.4. Reacções adversas	23
2.5. Mecanismos de ação da ITAE	23
2.6. O futuro da ITAE	29
3. Trabalho experimental	31
3.1. Objetivos	31
3.2. Material e métodos	31
3.3. Imunoterapia alérgico-específica.....	33
3.4. Resultados	36
3.5. Discussão.....	38
3.6. Conclusão	43
Bibliografia.....	44
Anexo I	54
Anexo II	55
Anexo III	58
Anexo IV	60
Anexo V	61

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Representação esquemática da epiderme	9
Figura 2 – Representação esquemática da patogénese da DAc.....	12
Figura 3 – Representação esquemática do padrão lesional típico da DAc.	14
Figura 4 – Lesões típicas de DAc.....	14
Figura 5 – Representação esquemática do procedimento e mecanismo de acção dos testes intradérmicos.	16
Figura 6 – Testes intradérmicos de um cão com DAc: exemplo de reacções positivas a extratos de pólenes e ácaros.	16
Figura 7 – Cronograma ilustrativo dos diferentes momentos escolhidos para a avaliação da eficácia da ITAE.....	19
Figura 8 – Representação esquemática das alterações imunológicas que ocorrem durante o curso de um protocolo de ITAE	24
Figura 9 – Síntese dos mecanismos de acção da imunoterapia alergénio específica: o papel central dos linfócitos T _{REG}	28
Figura 10 – O futuro da ITAE.....	30
Figura 11 – Imunoterapia alergénio-específica: exemplo dos frascos e código de cores utilizados. Frascos independentes foram usados em cães com um perfil de sensibilização misto.....	33
Figura 12 – Comparação entre os tempos escolhidos para reavaliação no presente trabalho e o descrito na literatura.	35
Figura 13 – Escala visual de prurido apresentada aos donos.	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Distribuição das horas de estágio pelos diferentes serviços no Hospital Escolar Veterinário da FMV-UL.	3
Tabela 2 – Factores ambientais que influenciam o desenvolvimento da dermatite atópica canina	8
Tabela 3 – Lista de critérios sugerida por Favrot et al., 2010.	13
Tabela 4 – Alguns dos mecanismos de acção da ITAE no Homem propostos até ao momento	18
Tabela 5 – Exemplo de um protocolo convencional de ITAE.....	21
Tabela 6 – Resumo das principais diferenças entre os protocolos convencionais e rápidos de ITAE. 22	
Tabela 7 – Resumo das principais características e funções da IL-10.....	26
Tabela 8 – Características dos animais incluídos no estudo.	31
Tabela 9 – Protocolo rápido de ITAE utilizado no trabalho.....	34
Tabela 10 – Resultados obtidos para o valor de CADESI-03 e grau de prurido.....	36
Tabela 11 – Comparação do valor de CADESI-03 e grau de prurido ao longo do tempo relativamente ao momento inicial.....	37
Tabela 12 – Concentração sérica de IL-10 obtida na amostra.	37
Tabela 13 – Resumo das Alterações na barreira cutânea em indivíduos atópicos.	54
Tabela 14 - Resumo das recomendações da ITFCAD para o tratamento da DAc (2010).	55
Tabela 15 – Escala de CADESI-03.	58
Tabela 16 – Evolução da pontuação na escala modificada de CADESI-03 e grau de prurido ao longo do tempo.....	61

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Valores de CADESI-03 na amostra ao longo do tempo.	36
Gráfico 2 – Valores de grau de prurido na amostra ao longo do tempo.	36

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

B _{REG}	Linfócitos B reguladores
CADESI-03	<i>Canine atopic Dermatitis Extend and Severity Index-third version</i>
CSIF	<i>Cytokine synthesis inhibitory factor</i>
CTLA	<i>Cytotoxic T lymphocyte-associated antigen</i>
DA	Dermatite atópica
DAC	Dermatite atópica canina
DAPP	Dermatite alérgica à picada da pulga
FcεRI	Receptor de alta afinidade para a IgE
FMV	Faculdade de Medicina Veterinária
ICOS	<i>Inducible costimulator</i>
Ig	Imunoglobulina
IL	Interleucina
IFN	Interferão
ITAE	Imunoterapia alérgico-específica
ITFCAD	<i>International task force on canine atopic dermatitis</i>
MHC	Complexo de histocompatibilidade maior
NK	Linfócitos <i>natural killer</i>
OMS	Organização Mundial de Saúde
PAMPS	<i>Pathogen-associated molecular patterns</i>
PD-1	<i>Programmed cell death protein 1</i>
PNU	Unidades de azoto proteico
PRR	Receptores de reconhecimento de padrões
RCAOA	Reacção cutânea adversa de origem alimentar
SRD	Sem raça definida
TGF	Factor de transformação do crescimento
T _H	Linfócitos T <i>helper</i>
TID	Testes intradérmicos
TLR	<i>Toll-like receptor</i>
TNF	Factor de necrose tumoral
T _{REG}	Linfócitos T reguladores
T _R 1	Linfócitos T reguladores de tipo 1
UL	Universidade de Lisboa

INTRODUÇÃO

A dermatite atópica canina (DAc) é uma das doenças cutâneas mais comuns no cão (Olivry *et al.*, 2001) e o número de casos tem vindo a aumentar nos últimos anos (Olivry *et al.*, 2010). Esta tendência é justificada por questões relacionadas com o indivíduo, com o meio ambiente mas também pela sistematização da abordagem diagnóstica e terapêutica dos médicos veterinários. A DAc tem um impacto tremendo não só na qualidade de vida dos cães mas também na dos donos (Favrot, Linek, Mueller, & Zini, 2010; Linek & Favrot, 2010; Olivry & Bizikova, 2013). O custo do tratamento bem como o tempo consumido com a administração do mesmo representam dois dos aspectos que mais contribuem para a perda de qualidade de vida dos donos (Linek & Favrot, 2010). A escolha do tratamento é por isso uma questão muito importante e que pode ser difícil de gerir. Os efeitos secundários provocados por alguns dos medicamentos usados no manejo da DAc são igualmente uma questão preocupante para os donos (Linek & Favrot, 2010). Sem efeitos secundários significativos, a imunoterapia alergénio-específica (ITAE), única forma de tratamento da DAc com capacidade para alterar o curso da doença e induzir cura clínica, é, a longo prazo, uma opção terapêutica económica e que proporciona inúmeros benefícios.

O factor tempo é um elemento muito importante no manejo da DAc. Talvez por isso, a introdução dos protocolos rápidos de imunoterapia (do inglês, *rush*), há muito utilizados no Homem, seja facilmente aceite pelos donos. No entanto, raramente são propostos como alternativa aos protocolos convencionais, pelos médicos veterinários. Os protocolos rápidos abreviam a fase de indução e são uma alternativa aos convencionais onde são necessárias várias semanas para cumprir esta fase inicial. Mais prático para os donos, confortável para os cães e a possibilidade de as melhorias clínicas serem notadas mais cedo são algumas das mais-valias de um protocolo rápido. A ITAE é, para grande parte dos donos, eficaz no manejo da DAc, no entanto, e apesar de a satisfação dos donos aumentar com a ITAE cerca de um terço interrompe o tratamento por razões que não se relacionam com a eficácia do mesmo (Dell, Griffin, Thompson, & Griffies, 2012; Linek & Favrot, 2010). Aumentar a adesão à terapêutica é essencial, e os protocolos rápidos podem ser uma ferramenta muito importante, contribuindo também para uma melhoria da qualidade de vida do dono e do cão. A indução de um estado de tolerância imunitária é um dos objectivos centrais da ITAE. Para este objectivo contribuem não só os linfócitos T reguladores (T_{REG}) mas também os mediadores inflamatórios por eles produzidos, onde se destaca a interleucina (IL) 10. Esta citocina é uma peça essencial para alcançar o sucesso terapêutico. A sua acção é transversal a todos os mecanismos de tolerância activados com a ITAE. Compreender a cinética dos níveis séricos de IL-10 num protocolo rápido e relacioná-la com a resposta clínica foi um dos objectivos do trabalho experimental desenvolvido no decorrer do estágio curricular e que será apresentado e discutido ao longo da presente dissertação.

CAPÍTULO I – RELATÓRIO DO ESTÁGIO CURRICULAR

O estágio curricular, etapa final do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, realizado sob a orientação científica da Professora Doutora Ana Mafalda Lourenço teve a duração de 9 meses e foi dividido em duas fases que, embora distintas, se revelaram complementares. A primeira, compreendida entre os dias 17 de Setembro de 2012 e 15 de Março de 2013, decorreu no Hospital Escolar Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa (FMV-UL), num total de 1097 horas; a segunda, que decorreu entre os dias 18 de Março e 31 de Maio de 2013, teve lugar na VETCOR – Serviços Veterinários com uma carga horária de 363 horas. Ainda que de forma sumária, seguidamente serão descritas as actividades desenvolvidas e expostas as competências adquiridas ao longo deste período.

1. HOSPITAL ESCOLAR VETERINÁRIO DA FMV-UL

O estágio no Hospital Escolar esteve organizado num esquema rotacional pelos diferentes serviços (Tabela 1).

TABELA 1 – Distribuição das horas de estágio pelos diferentes serviços no Hospital Escolar Veterinário da FMV-UL.

Hospital Escolar Veterinário da FMV-UL	
SERVIÇO	TEMPO DISPENDIDO (HORAS)
Medicina Interna	600
Internamento	312
Imagiologia	96
Cirurgia	89
TOTAL	1097

A. MEDICINA INTERNA

No decorrer de uma consulta de medicina geral no Hospital Escolar o estagiário assume determinadas tarefas entre as quais se destacam a recepção do paciente e primeira abordagem com recolha da anamnese, realização do respectivo exame físico culminado na apresentação do caso clínico ao médico veterinário responsável pela consulta. Sempre que possível são discutidos diagnósticos diferenciais, eventuais exames complementares e possíveis tratamentos. O estagiário, realiza ainda, inúmeros procedimentos como sejam: medição da pressão arterial, colocação de cateteres, colheita de sangue, aplicação de *microchip*, preparação e administração de vacinas, realização de testes rápidos de diagnóstico e administração de medicamentos.

Devido ao seu interesse pela área de Dermatologia, a estagiária assistiu, ao longo de todo o estágio, às consultas da especialidade levadas a cabo pela Professora Doutora Ana Mafalda Lourenço perfazendo um total de 296 horas no serviço. Com uma organização diferente das consultas de medicina geral, na especialidade, as estagiárias têm autonomia para realizar os exames complementares de diagnóstico que considerarem mais apropriados antes de exporem o caso ao clínico responsável. Nesse momento, já com a anamnese recolhida, diagnósticos diferenciais em mente e resultados dos exames realizados, as estagiárias discutem o caso clínico com a Médica Veterinária assistente ficando, a partir de então, a condução da consulta a cargo da mesma. As estagiárias são igualmente responsáveis pela elaboração do relatório da consulta e esclarecimento do proprietário.

Ao acompanhar as consultas de dermatologia a estagiária adquiriu um conjunto de competências quer na recolha de uma história pregressa completa e detalhada, quer na realização e interpretação dos exames complementares de diagnóstico mais importantes na especialidade. Destes, destacam-se, pela frequência com que são requisitados: citologias cutâneas e auriculares, raspagens cutâneas, tricogramas, provas alergológicas cutâneas, videotoscopias, observações com lâmpada de Wood, biópsias de pele, punções aspirativas com agulha fina de nódulos cutâneos.

Ao longo de todo o estágio, e em parceria com os serviços de Dermatologia e Imunoalergologia, a estagiária ficou responsável pela realização dos protocolos rápidos de imunoterapia alérgico-específica (ITAE) a que foram submetidos os animais que, após provas alergológicas cutâneas positivas, avançaram para o tratamento etiológico.

B. INTERNAMENTO

A organização do serviço exige a permanência de um estagiário em turnos de 24 horas (ou turnos duplos de 12 horas). Com o auxílio da equipa médica de serviço (Médico Veterinário assistente, enfermeiro e/ou auxiliar) o estagiário está responsável pela prestação de cuidados de higiene, alimentação, bem-estar e monitorização regular a todos os animais internados bem como, pela realização de inúmeros cuidados de enfermagem (preparação e administração de fármacos, cateterização venosa, colheita de sangue, urina ou outro tipo de amostras, medição da pressão arterial, medição da glicemia, algaliação e controlo de volume de urina, limpeza e desinfeção de feridas, execução de pensos, determinação de microhematócrito e proteínas totais com o recurso a um refractómetro). Sempre que ao serviço se juntam alunos de 3º, 4º ou 5º anos o estagiário está, também, responsável por apoiar e promover a integração dos colegas no grupo de trabalho.

C. IMAGIOLOGIA

O serviço de imagiologia está subdividido pelos serviços de radiologia, tomografia axial computadorizada, ecografia e endoscopia. Em qualquer uma destas áreas faziam parte das funções da estagiária auxiliar no posicionamento e contenção dos animais submetidos a exame, nos procedimentos pré-anestésicos e monitorização do paciente, durante, e após a anestesia sempre que esta fosse necessária (essencialmente, em animais submetidos a mielografia, tomografia axial computadorizada ou endoscopia). Após a conclusão do exame era feita a discussão dos achados imagiológicos e respectiva relevância clínica.

No que respeita à ecografia, a estagiária teve a oportunidade de assistir a alguns procedimentos ecoguiados dos quais são exemplo, pericardiocentese, abdominocentese e cistocentese; e de praticar a técnica ecográfica, sob a orientação médica.

D. CIRURGIA

Durante o período que a estagiária acompanhou a equipa de cirurgia teve oportunidade de participar nas consultas pré-cirúrgicas (recepção do animal, administração de medicação tranquilizante e esclarecimento de dúvidas dos proprietários); na preparação do paciente e indução da anestesia (cateterização venosa; o cálculo, preparação e administração da medicação pré-cirúrgica e do indutor anestésico; a entubação endotraqueal; e a preparação do campo cirúrgico); e de assistir ao procedimento cirúrgico propriamente dito, assumindo a função de anestesista. Com um predomínio de cirurgia de tecidos moles onde se destacam as mastectomias, as ovariohisterectomias, nodulectomias e orquiectomias, a estagiária teve ainda a oportunidade de assistir a uma cirurgia oftálmica (éxerese de nódulo palpebral).

2. VETCOR – SERVIÇOS VETERINÁRIOS

Durante o período em que permaneceu na VETCOR – Serviços Veterinários, a estagiária teve oportunidade de assistir a consultas, participar em cirurgias e prestar os cuidados necessários aos animais internados. No decorrer das consultas, conduzidas pelas Médicas Veterinárias assistentes, a estagiária ficou responsável por fazer o exame físico aos pacientes e executar determinadas tarefas como: colocação de cateteres; colheita de amostras; aplicação de *microchip*; preparação e administração vacinas e outros fármacos; execução de exames complementares de diagnóstico (testes rápidos, gota fresca, citologias várias, análises sanguíneas, radiografias, ecografias, videotoscopias, rinoscopias, endoscopias). Uma vez que as cirurgias são uma parte importante no volume de trabalho diário na clínica a estagiária esteve teve a possibilidade de realizar orquiectomias em gatos e ovariohisterectomias em cadelas e gatas. Sempre que se revelou oportuno a estagiária discutiu os casos clínicos a que foi exposta com o corpo clínico.

CAPÍTULO II – AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE UM PROTOCOLO RÁPIDO DE IMUNOTERAPIA ALERGÉNIO-ESPECÍFICA EM CÃES ATÓPICOS

1. DERMATITE ATÓPICA CANINA

A DAc é definida como “doença cutânea inflamatória e pruriginosa, de predisposição genética, cujas características clínicas estão associadas a anticorpos IgE, dirigidos, na maioria dos casos, contra alergénios ambientais” (Halliwell, 2006). É importante referir que, à semelhança do Homem, também o Cão pode apresentar sinais clínicos de DAc sem que contudo seja possível identificar IgE alergénio-específica. Esta doença é designada dermatite de tipo atópico (DTA) e será o equivalente à forma intrínseca de dermatite atópica (DA) no Homem (Halliwell, 2006; Marsella, Sousa, Gonzales, & Fadok, 2012). Num estudo retrospectivo conduzido por Prélaud e Couchet-Faivre (2007), 26% dos cães com sinais clínicos de DAc não apresentavam IgE específica (Marsella *et al.*, 2012). No Homem, especula-se que a forma intrínseca possa ser uma fase inicial da forma extrínseca de DA quando ainda não é possível detectar a IgE. Por outro lado, em alguns indivíduos é possível que outros mecanismos – IgE independentes – estejam envolvidos na patogénese da DA ou ainda que, a hipersensibilidade seja a um conjunto de alergénios, considerados menores, que permanecem por identificar (Marsella *et al.*, 2012).

A DAc é referida como a doença alérgica com maior expressão no Cão e, muito embora a sua prevalência possa ser afectada pela região geográfica, pela forma como foi conduzido o estudo epidemiológico ou pelos critérios de diagnóstico utilizados, estima-se que 10 a 15% dos cães sofram de DAc (prevalência superior se raça predisposta) e que a sua incidência esteja a aumentar (Hillier, 2002; Marsella & Girolomoni, 2009; Muller & Kirks, 2012). A mesma tendência é observada em medicina humana onde se estima que 5 a 20% das crianças sofram de dermatite atópica (Halken, 2004; Lourenço-Martins, Peleteiro, Correia & Almeida, 2010).

Desde muito cedo que se conferiu grande importância à história familiar enquanto factor de risco para o desenvolvimento de DA (Barnes, 2010). Referem-se à família do Imperador Octavianus Augustus (século I a.C) os primeiros relatos de uma doença em tudo semelhante à atualmente conhecida como DA. A tendência familiar foi novamente constatada no início do século XX quando a doença começou a ser estudada em detalhe (Halliwell, 2009a; Lourenço-Martins, 2010). No Cão, os primeiros casos descritos referiam-se a quadros clínicos de eczema aparentemente despoletados por hipersensibilidade a alimentos. Schnelle e Burns em 1933 e Pomeroy um ano depois foram os primeiros a descrever a doença que viria mais tarde a ser designada como DAc. Wittich (1941) relatou o primeiro caso de rinite alérgica no Cão, tendo sido este igualmente o primeiro caso a responder positivamente a um protocolo de imunoterapia alergénio-específica (Halliwell, 2009a;

Marsella *et al.*, 2012). Tal como no Homem, também no Cão a componente genética da DAC é importante. A predisposição genética que algumas raças apresentam bem como a distribuição das lesões parecem ser influenciadas pela localização geográfica da população o que se relaciona, muito provavelmente, com diferenças nos *pools* genéticos, com a pressão de selecção e popularidade das diferentes raças (Jaeger *et al.*, 2010; Nuttall, 2013). Além de possibilitar a compreensão dos mecanismos subjacentes à fisiopatologia da DAC, segundo Nuttall (2013), o conhecimento alcançado no campo da genética poderá vir a ser útil no momento da escolha do tratamento e em última hipótese permitirá reduzir a probabilidade de um indivíduo, geneticamente predisposto, desenvolver a forma clínica da doença.

1.1. **DAC:** uma doença multifactorial

A DAC é uma doença multifactorial (Favrot, Steffan, Seewald, & Picco, 2010). São inúmeras as alterações no sistema imunitário que se somam a defeitos genéticos e factores ambientais (Tabela 2) que interagem de forma complexa entre si contribuindo para um quadro clínico de DAC (Marsella *et al.*, 2012; Nuttall, 2013).

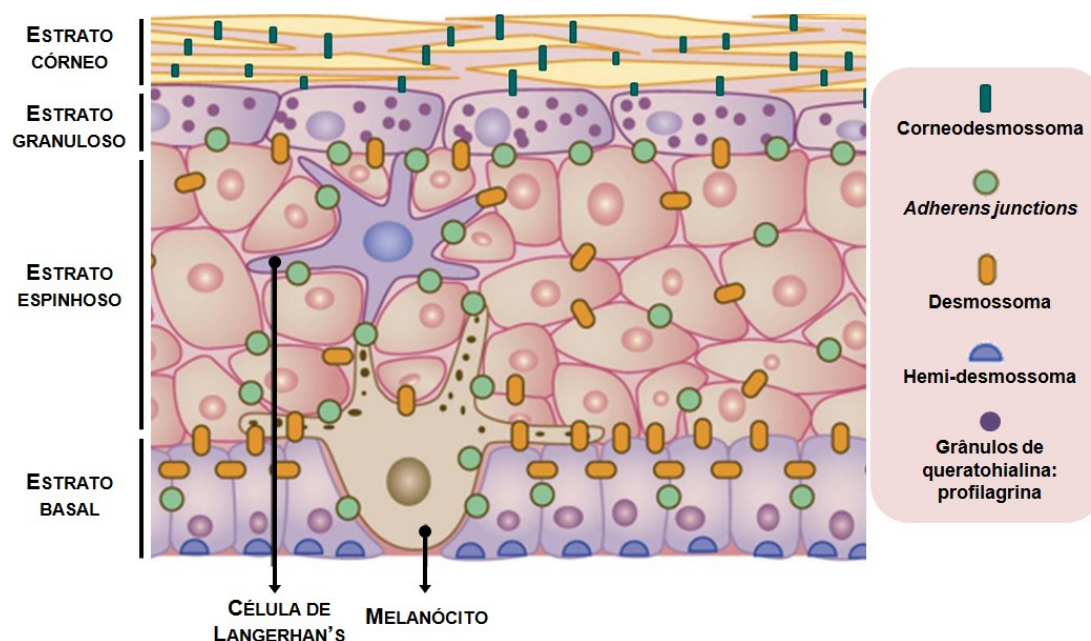
TABELA 2 – Factores ambientais que influenciam o desenvolvimento da dermatite atópica canina (Nuttall, 2013).

RISCO		
ELEVADO	REDUZIDO	SEM EFEITO
❖ Vida urbana	❖ Vida rural	❖ Sexo
❖ Densidade populacional elevada	❖ Viver com outros animais	❖ Época do nascimento
❖ Pluviosidade anual elevada	❖ Passeios em florestas	❖ Ambiente doméstico
❖ Adopção entre as 8 e as 12 semanas	❖ Alimentar cadelas lactantes com alimentos não comerciais	❖ Vacinação
❖ Banhos regulares		❖ Desparasitação

A barreira cutânea e os receptores de reconhecimento de padrões (PRRs) são dois mecanismos de defesa inata que podem estar alterados em indivíduos atópicos (Andersson, 2008; De Benedetto, Agnihothri, McGirt, Bankova, & Beck, 2009). Os PRRs, reconhecem determinados padrões moleculares – *pathogen-associated molecular patterns* (PAMPS) – comuns a inúmeros microrganismos mas que não existem no hospedeiro (Medzhitov & Janeway, 2002) e desencadeiam uma resposta inflamatória inespecífica. Os receptores *toll-like* (TLRs), expressos à superfície de células apresentadoras de antígenos, mastócitos, neutrófilos e queratinócitos, são os PRRs melhor caracterizados até ao momento (De

Benedetto *et al.*, 2009). No Cão, o comprometimento da barreira cutânea é consequência de alterações ao nível dos lípidos, das proteínas do estrato córneo e das *tight junctions* que asseguram a união entre os estratos córneo e granuloso (Figura 1). Estes defeitos, que facilitam a entrada de alérgenos ambientais e promovem o desenvolvimento da DAC, são depois exacerbados pelo processo inflamatório que se instala comprometendo ainda mais a integridade da barreira cutânea (Elias & Steinhoff, 2008; Halliwell, 2009b; Marsella, 2013b; Nishifuji & Yoon, 2013; Williams, 2013).

FIGURA 1 – Representação esquemática da epiderme (adaptado de Ausiello & Goldman, 2009).



No Homem, grande importância é atribuída às mutações no gene da filagrina (Marsella *et al.*, 2012). A filagrina é uma proteína sintetizada pelos queratinócitos durante o seu processo de maturação e essencial à normal hidratação da camada córnea (Kezic *et al.*, 2008; Marsella *et al.*, 2012). As mutações no gene da filagrina que, em medicina humana, são consideradas um factor predisponente ao desenvolvimento de DA já foram identificadas no Cão (Chervet *et al.*, 2010; Marsella *et al.*, 2012). Estas alterações assumem especial importância quando cada vez mais se considera que a via percutânea é a principal forma de apresentação antigénica na DAC (Marsella, Nicklin, & Lopez, 2006). Estudos de imunohistoquímica bem como testes de provocação cutânea (*patch test*) em modelos caninos da DAC permitiram, nos últimos anos, compreender melhor alguns dos mecanismos de resposta inflamatória subjacentes às lesões cutâneas de DAC (Marsella, Nicklin, *et al.*, 2006; Marsella *et al.*, 2012). De uma forma geral, as evidências recolhidas até à data sugerem que o Cão apresente as alterações da barreira cutânea descritas no Homem (Marsella, Samuelson, & Doerr, 2010). No Anexo 1 estão resumidas algumas destas alterações.

Também as infecções cutâneas secundárias constituem um ponto crítico no manejo da DAC e o Cão, à semelhança do Homem, apresenta uma elevada prevalência de infecções, por norma graves, provocadas por *Staphylococcus pseudintermedius* e *Malassezia pachydermatis* (Olivry & Sousa, 2001). Além da entrada de microrganismos estar facilitada devido aos defeitos na barreira cutânea (Marsella, 2013b; Nishifuji & Yoon, 2013), a existência de estirpes de estafilococos com uma forte capacidade de adesão aos corneócitos (McEwan, Kalna, & Mellor, 2005; Simou, Thoday, Forsythe, & Hill, 2005) dificulta a erradicação destes microrganismos que pode, desde logo estar comprometida por alterações nos TLR-2 (De Benedetto *et al.*, 2009).

A DAC caracteriza-se por uma produção exagerada de IgE alérgénio-específica pelos linfócitos B. No entanto, é reconhecido o papel determinante da IgE no reconhecimento e captura dos alérgénios bem como na amplificação da resposta inflamatória, esta é cada vez mais considerada apenas mais um elemento dentro da imensa complexidade da DAC (Marsella *et al.*, 2012). Outros mecanismos de resposta celular estão alterados e contribuem igualmente para o aparecimento e perpetuação das lesões. Sabe-se hoje, que à semelhança do que acontece no Homem, também no Cão, existe, *a priori*, um predomínio de citocinas inflamatórias sintetizadas pelos linfócitos T *helper* de tipo 2 (T_H2) na pele não lesionada de indivíduos atópicos. O aumento da expressão de IL-4 e a redução da expressão de factor de transformação do crescimento (TGF)- β pode explicar a falta de tolerância que estes indivíduos exibem logo numa fase inicial, aquando os primeiros contactos com os alérgénios. Com o passar do tempo, aumenta a expressão de citocinas de tipo T_H1 (IL-2, interferão (IFN)- γ , factor de necrose tumoral (TNF)- α) havendo assim, numa fase crónica uma resposta mista (T_H1-T_H2) provavelmente associado ao autotraumatismo e infecções secundárias que então se desenvolvem (Marsella, Nicklin, & Melloy, 2002; Marsella *et al.*, 2012; Marsella, Olivry, & Maeda, 2006).

Paralelamente ao aumento de linfócitos T_H2 há uma redução do número de linfócitos T reguladores (T_{REG}) de tipo 1 (T_R1). No entanto não foi, ainda, clarificado se a dificuldade em regular a resposta imunitária, montada em casos de alergia, se deve apenas ao reduzido número de linfócitos T_R1 ou se as suas capacidades supressivas estão também elas comprometidas (Akdis, Blaser, & Akdis, 2005; Palomares *et al.*, 2010). Por exemplo, sabe-se que em microambientes particulares, e sob determinadas circunstâncias, como infeções crónicas, as células dendríticas estimulam a produção de linfócitos T_{REG} que induzem um estado de tolerância imunitária que trava o agravamento das lesões mas promove a persistência dos agentes patogénicos (Palomares *et al.*, 2010). A tolerância imunitária expressa fundamentalmente pela presença em circulação de linfócitos T tolerantes e/ou de citocinas de efeito supressor é um mecanismo determinante para uma resposta imunitária adequada e saudável. O mesmo tipo de resposta parece desenvolver-se nos indivíduos submetidos à administração de ITAE (Akdis *et al.*, 2005).

Tem aumentado nos últimos anos o interesse pela sinergia entre os sistemas nervoso e imunitário na pele e a sua implicação na fisiopatologia de inúmeras doenças cutâneas nomeadamente a DA. Dada a extensa e complexa inervação da pele é óbvio para a comunidade científica que células imunitárias e fibras nervosas comunicam entre si e modulam a actividade umas das outras. No entanto não está ainda demonstrada em que medida esta interacção tem repercussões na fisiopatologia da DA (Marsella *et al.*, 2012).

1.2. Fisiopatologia: a teoria actual

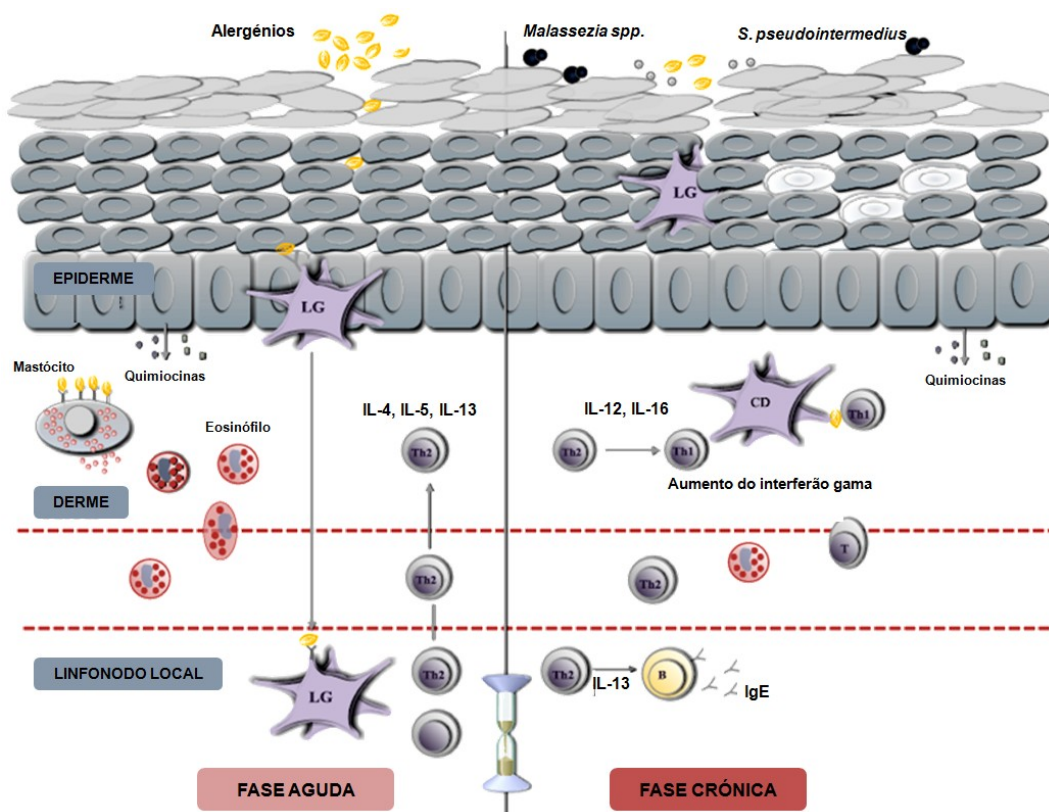
Anteriormente centrada na hipersensibilidade imediata a aeroalergénios mediada por anticorpos IgE, a teoria atual, atribuiu um papel de maior relevo à barreira cutânea e à apresentação antigénica por via percutânea (Halliwell, 2009b; Marsella & Samuelson, 2009; Olivry, DeBoer, *et al.*, 2010). Apesar de não ser, ainda, do conhecimento da comunidade científica se os defeitos da barreira epidérmica estão presentes em todos os indivíduos (Olivry, 2011), sabe-se que esta alteração facilita o contacto dos alergénios com as células de Langerhans da pele que os captam, processam e depois expressam à sua superfície devidamente acoplados a moléculas do complexo de maior histocompatibilidade (Marsella *et al.*, 2012). As células de Langerhans migram até aos linfonodos regionais onde fazem a apresentação antigénica a linfócitos T_H0 . Deste processo resulta a activação e diferenciação de linfócitos T_H2 que, por quimiotaxia, migram até à epiderme. As interleucinas então produzidas (IL-4 e IL-13) promovem a diferenciação de plasmócitos e a IgE alergénio-específica produzida entra em circulação e atinge diferentes tecidos onde se irá ligar a qualquer célula que exiba na sua superfície um receptor para a IgE, seja ele de alta ou baixa afinidade (Marsella *et al.*, 2012). Para a epiderme migram não só células de Langerhans e linfócitos T_H2 alergénio-específicos mas também mastócitos, eosinófilos e basófilos que, aquando um segundo contacto com o alergénio, libertam o conteúdo dos seus grânulos o que promove a inflamação da pele. Os mediadores inflamatórios libertados durante todo o processo não só asseguram a sobrevivência das células inflamatórias como são também responsáveis por desencadear a sensação de prurido presente logo numa fase muito inicial da doença (*pruritus sine materia* – presença de prurido antes do aparecimento de lesões cutâneas). À medida que as lesões progridem, ocorre uma polarização para uma resposta T_H1 , embora permaneçam elevados os níveis de IL-4, citocina que estimula os linfócitos B a produzir IgE (Marsella *et al.*, 2012; Olivry, DeBoer, *et al.*, 2010).

A cronicidade das lesões é assegurada não só pelos neuromediadores produzidos mas também por falhas na supressão dos mecanismos pró-inflamatórios que se ativam mais tarde (Olivry, DeBoer, *et al.*, 2010). Igualmente importante para a persistência da sintomatologia será a exposição repetida a alergénios por via percutânea que além de

despoletar uma reação inflamatória, agrava as alterações estruturais e funcionais observadas ao nível da camada córnea da epiderme (Olivry, 2011).

Na Figura 2 está representado, de forma resumida, o mecanismo de patogénese da DAC actualmente proposto baseado nos resultados dos estudos desenvolvidos no Cão e no Homem.

FIGURA 2 – Representação esquemática da patogénese da DAC (esquema gentilmente cedido pela Professora Doutora Ana Mafalda Lourenço).



Legenda: Os indivíduos atópicos desenvolvem, numa fase aguda, uma resposta do tipo T_H2 que está associada a níveis elevados de IgE e eosinofilia. Contudo, a infiltração por eosinófilos e macrófagos que acompanha a cronicidade das lesões promove o aumento da expressão de IL-12 e uma inversão para uma resposta do tipo T_H1 . (CD – célula dendrítica; LG – células de Langerhans).

1.3. Padrão lesional e diagnóstico

O diagnóstico de DAC é essencialmente clínico (DeBoer & Hillier, 2001a). Os critérios de diagnóstico actualmente recomendados pela *International Task Force on Canine Atopic Dermatitis* (ITFCAD) – critérios de Favrot – foram publicados apenas em 2010 após o autor e colaboradores se reunirem para discutir e validar as duas listas de critérios anteriormente publicadas, Willemse (1986) e Prélaud (1998) (Olivry, 2010). A lista actual (Tabela 3),

permite alcançar uma sensibilidade de 85,4% e especificidade de 79,1% quando cinco dos oito critérios são satisfeitos. Ainda assim, é recomendação dos autores a aplicação da referida lista apenas quando determinadas condições estejam reunidas, como seja anamnese e exame clínico completos e exclusão dos principais diagnósticos diferenciais (dermatite alérgica à picada da pulga (DAPP); reacções cutâneas adversas de origem alimentar (RCAOA); sarna sarcóptica; piodermite; dermatite por *Malassezia spp.* e dermatite de contacto) (DeBoer & Hillier, 2001a; Favrot, Steffan, *et al.*, 2010; Olivry, DeBoer, *et al.*, 2010).

TABELA 3 – Lista de critérios sugerida por Favrot *et al.*, 2010.

CRITÉRIOS DE FAVROT, 2010

- * Aparecimento dos sinais clínicos antes dos 3 anos de idade
- * Cães de interior (*indoor*)
- * Prurido responde favoravelmente ao tratamento com glucocorticóides
- * Prurido sem lesões, numa fase inicial
- * Membros anteriores afectados
- * Pavilhões auriculares atingidos
- * Margens dos pavilhões auriculares sem lesões
- * Região lombosagrada sem lesões

A distribuição das lesões apesar de variável é em tudo semelhante à de pessoas com eczema atópico. Mais uma vez a cronicidade das lesões, o tipo de alérgenos envolvidos, o grau de prurido e a raça parecem contribuir de forma determinante para o padrão lesional (Jaeger *et al.*, 2010; Olivry, DeBoer, *et al.*, 2010). Na Figura 3 estão representadas as áreas corporais onde, mais frequentemente, se observam as lesões (eritema, escoriações, alopecia auto-induzida, liquenificação e hiperpigmentação). São elas: focinho, mento e face ventral do pescoço, região periocular, pavilhões auriculares, axilas, virilhas, abdómen, períneo, face ventral da cauda, zonas flexurais e extremidades dos membros (Griffin & DeBoer, 2001; Olivry, DeBoer, *et al.*, 2010; Wilhem, Kovalik, & Favrot, 2011). É frequente a presença concomitante de infecções secundárias de natureza bacteriana e/ou fúngica (*Malassezia spp.*) bem como de otite externa (DeBoer & Marsella, 2001; Griffin & DeBoer, 2001; Marsella & Sousa, 2001). Apresentando uma tendência crescente mas ainda subdiagnosticados, estão os casos de rinite e conjuntivite alérgica (Lourenço-Martins, 2010; Olivry, DeBoer, *et al.*, 2010). Foi recentemente demonstrado um aumento da osmolaridade da lágrima em cães atópicos com conjuntivite alérgica, estando esse aumento positivamente correlacionado com a gravidade da doença (Lourenço, 2013)

Na figura 4 são apresentadas algumas lesões características de DAC.

FIGURA 3 – Representação esquemática do padrão lesional típico da DAC (esquema gentilmente cedido pela Professora Doutora Ana Mafalda Lourenço).

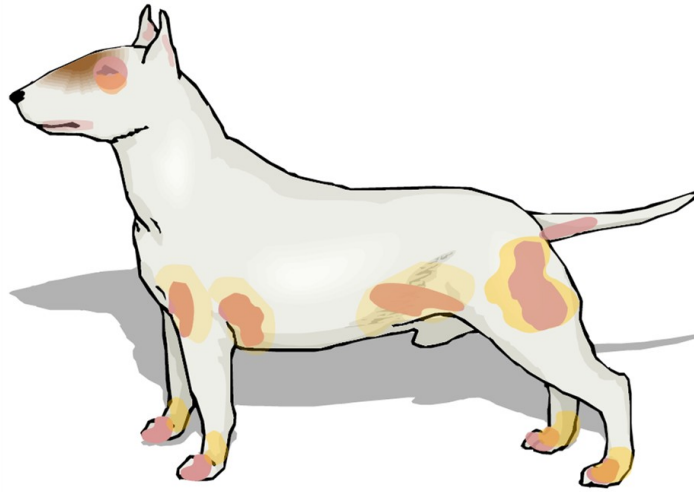


FIGURA 4 – Lesões típicas de DAC. A – eritema. B – alopecia autoinduzida. C – conjuntivite. D – escoriações. (fotografias gentilmente cedidas por Ana Vaz Rico).



1.3.1. Provas Alergológicas

As provas alergológicas complementam o diagnóstico clínico previamente definido e permitem alcançar dois grandes objectivos:

- i) determinar se a doença está ou não associada à produção de IgE específica;
- ii) identificar quais os alérgenos a que o animal é sensível.

Conhecendo esta informação o clínico tem então ao seu dispor duas ferramentas cruciais no tratamento: a evicção alérgica mas mais importante ainda, a possibilidade de iniciar um protocolo de imunoterapia (ITAE) (Olivry, DeBoer, *et al.*, 2010).

Em medicina veterinária, para efeitos de diagnóstico clínico, são utilizados essencialmente dois tipos de provas: os testes serológicos e os testes intradérmicos (TID). Mais recentemente começaram a ser testados e validados os testes por picada (percutâneos), prova há muito utilizada em medicina humana e considerada a primeira escolha entre os testes de diagnóstico de doenças alérgicas (Hillier & DeBoer, 2001; Matias, 2013; Rocha, 2012).

Estas provas detectam e quantificam a IgE alérgeno-específica. Geralmente, do painel de alérgenos testados fazem parte, pólenes, ácaros, fungos e epitélios possivelmente relevantes para o quadro clínico do animal. No entanto, a presença, mesmo que em quantidades consideradas significativas, não determina que o indivíduo seja alérgico devendo por isso ser, sempre, considerada a história pregressa e sintomatologia existentes (DeBoer & Hillier, 2001b).

A falta de padronização que continua a existir a par dos inúmeros factores que podem influenciar o nível de IgE, que se sabe serem importantes no Homem e cuja influência no Cão continua por determinar representam uma das grandes desvantagens das provas serológicas. No entanto, estas continuam a ser a forma mais simples, cómoda e que requer menor investimento por parte do clínico (Hillier & DeBoer, 2001). Apresentam ainda a mais-valia de poderem ser realizados em simultâneo com a administração de anti-histamínicos e glucocorticóides (tratamentos de curta duração) (Carlotti, 2012).

Contrariamente aos testes serológicos, os intradérmicos devem ser conduzidos por um médico veterinário dermatologista ou alergologista experiente (ou com formação) e, embora não seja obrigatória, é geralmente requerida a sedação do paciente (Hillier & DeBoer, 2001). É ainda necessário que seja respeitado um período de privação farmacológica (antihistamínicos – 7 dias; glucocorticóides orais e tópicos – 14 dias; glucocorticóides injectáveis – 8 semanas; ciclosporina – 0 dias) (Hillier & DeBoer, 2001; Olivry & Saridomichelakis, 2013). Estas são algumas das inúmeras recomendações publicadas pela ITFCAD (Hillier & DeBoer, 2001). Apesar das limitações já descritas, os TID continuam a ser os testes *in vivo* mais utilizados por dermatologistas em medicina veterinária (Hillier & DeBoer, 2001). A preferência pode ser explicada pelo facto de os TID permitirem reproduzir o mecanismo de resposta imunitária montado aquando a apresentação antigénica por via

percutânea. A administração intradérmica dos alérgenos estimula a IgE expressa à superfície de mastócitos ao nível da derme provocando a sua desgranulação (Figura 5). Os mediadores inflamatórios então libertados originam o edema, eritema e tumefação utilizados mais tarde como critério durante a leitura dos resultados (Figura 6) (Carlotti, 2012).

FIGURA 5 – Representação esquemática do procedimento e mecanismo de acção dos testes intradérmicos (esquema gentilmente cedido pela Professora Doutora Ana Mafalda Lourenço).

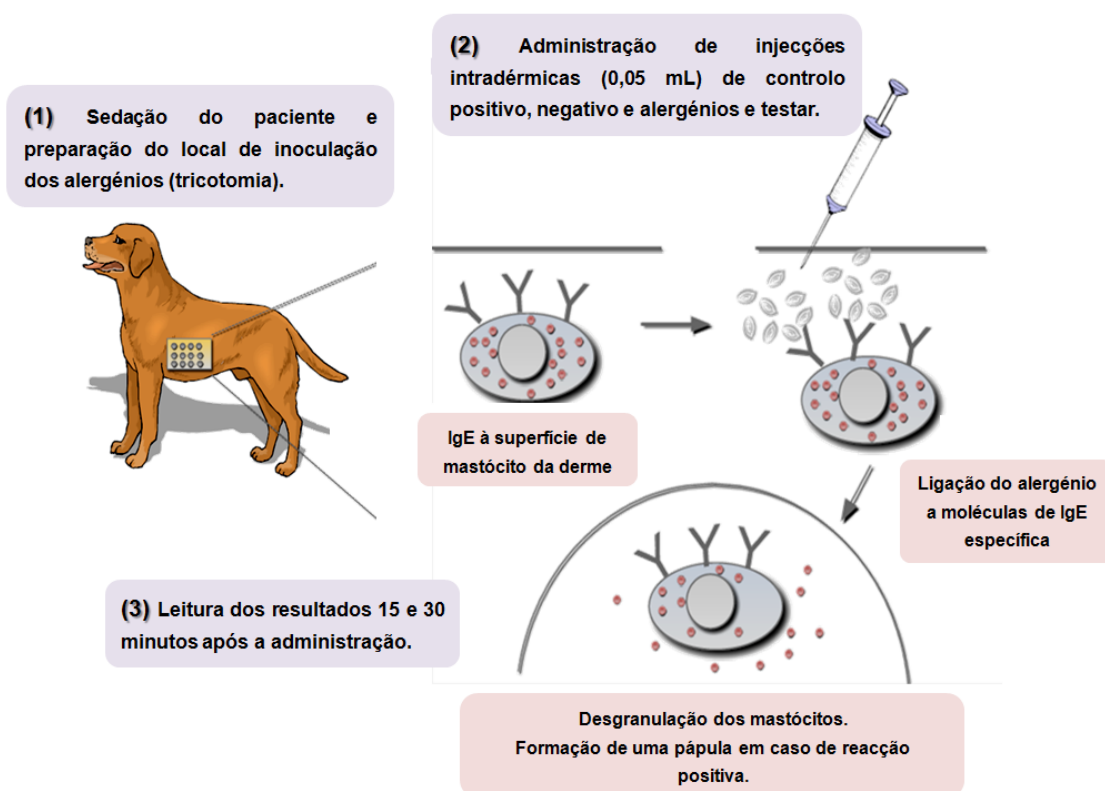


FIGURA 6 – Testes intradérmicos de um cão com DAC: exemplo de reacções positivas a extratos de pólenes e ácaros (fotografia gentilmente cedida por Diana Mascarenhas).



1.4. Tratamento

A DAc exige que seja montado um plano terapêutico adaptado à realidade de cada indivíduo. Esta abordagem, além de personalizada requer a integração de diferentes terapias o que pode ser difícil de gerir quer para o clínico quer para o proprietário. No entanto é esta a recomendação da ITFCAD e que, a médio-longo prazo, proporciona ao animal, e ao dono, melhor qualidade de vida (Olivry & Bizikova, 2013; Olivry, DeBoer, *et al.*, 2010; Tarpataki, 2006).

É importante que o clínico mantenha presente alguns conceitos. Dois deles, o conceito de “limiar de prurido” e “efeito somatório”, estão relacionados entre si. O primeiro determina que um cão com DAc só apresenta prurido quando este atinge e ultrapassa determinado nível que corresponde ao “limiar” do indivíduo, conceito similar ao do limiar da dor; o segundo, refere-se à presença de condições paralelas (DAPP, intolerância alimentar, piodermite) que concorrem para a exacerbação da sintomatologia apresentada, nomeadamente do prurido. Assim se percebe a necessidade de adoptar uma abordagem terapêutica multifacetada, onde importa reduzir o grau de prurido e de desconforto do indivíduo (tratamento sintomático) mas também intervir do ponto de vista etiológico promovendo a dessensibilização (ITAE), uma vez que esta é a única forma de alterar o curso natural da doença (Griffin & Hillier, 2001; Marsella & Sousa, 2001; Olivry, DeBoer, *et al.*, 2010).

As recomendações recentes da ITFCAD (2010), sobre as opções terapêuticas da DAc (Olivry, DeBoer, *et al.*, 2010), são apresentadas de forma resumida no Anexo II.

2. IMUNOTERAPIA ALERGÉNIO-ESPECÍFICA – ITAE

A ITAE, definida pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como a “administração gradual de quantidades crescentes de um extrato de um alérgénio a um indivíduo alérgico, de modo a melhorar os sintomas associados com a exposição subsequente ao alérgénio causal” (Bousquet, Lockey, Malling, & WHO, 1998), é a única forma de tratamento da DAc capaz de induzir um estado de verdadeira remissão clínica (Dell *et al.*, 2012), alterar o curso da doença (Olivry, DeBoer, *et al.*, 2010) e prevenir novas sensibilizações (Reha & Ebru, 2007).

A primeira publicação alusiva à ITAE é do início do século XX e da autoria de Noon e Freeman. De facto, esta foi a primeira vez que foram utilizados extratos de pólenes num procedimento de imunoterapia. No entanto, o princípio subjacente à ITAE – a dessensibilização – havia já sido utilizado pelo Rei Mithridates VI (132-63 a.C.) que usou doses crescentes de veneno de cobra para se tornar imune contra a toxina. Também Samuel Hahnemann (1755-1843) desenvolveu o conceito de homeopatia com base na observação de que a substância que provoca a lesão pode ser útil no processo de cura; deu seguimento ao seu trabalho usando diferentes diluições das substâncias identificadas como causa de inúmeras doenças no tratamento das mesmas. A eficácia da ITAE no tratamento

da asma, rinite alérgica e hipersensibilidade a insectos está comprovada por inúmeros ensaios controlados por placebo, no entanto, no Homem, não é frequente a sua escolha em casos de DA, talvez porque os últimos são avaliados por dermatologistas e não imunoalergologistas (Carlotti, 2009; Ring & Gutermuth, 2011).

No Cão, foi utilizada pela primeira vez em 1940 mas só na década de 80 o seu uso se tornou popular na Europa. É cada vez mais considerada uma opção válida no tratamento da DAc, ainda assim são poucos os estudos controlados randomizados que certifiquem a sua eficácia (Carlotti, 2009; Olivry & Bizikova, 2013; Olivry, Foster, *et al.*, 2010).

Foram muitas as explicações avançadas, ao longo destes 100 anos, que procuram justificar a eficácia da ITAE no Homem. A produção de anticorpos “de bloqueio” – do inglês *blocking antibodies* – essencialmente IgG foi uma das primeiras teorias apresentadas. Sabe-se hoje que, no Cão, contrariamente ao que se verifica no Homem, a expressão destes anticorpos não parece ter um papel preponderante durante a resposta à ITAE (Carlotti, 2009; Hou, Pemberton, Nuttall, & Hill, 2005). Muitos outros mecanismos são apontados (Tabela 4) diferindo alguns deles entre as fases de indução e manutenção (Carlotti, 2009; Ring & Gutermuth, 2011). É atualmente reconhecido que os mecanismos de tolerância imunitária desencadeados pela administração da ITAE são semelhantes aos desenvolvidos por indivíduos saudáveis onde as células T_{REG} e seus mediadores desempenham um papel determinante.

TABELA 4 – Alguns dos mecanismos de acção da ITAE no Homem propostos até ao momento (Ring & Gutermuth, 2011).

MECANISMOS DE ACÇÃO DA ITAE

- * Indução de IgG específica “de bloqueio”.
- * Bloqueio de antigénios.
- * Diminuição da produção de IgE e bloqueio do seu receptor nos mastócitos e basófilos.
- * Anticorpos anti-idiotípicos.
- * Secrecção de IgG e IgA nas mucosas.
- * Redução do afluxo de células inflamatórias.
- * Diminuição da libertação de mediadores.
- * Inibição de haptenos.
- * Indução de anergia das células T.
- * Indução de linfócitos B tolerantes.
- * Alteração de uma resposta T_{H2} para T_{H1}.
- * Estimulação de linfócitos T_{REG}.

2.1. Indicações

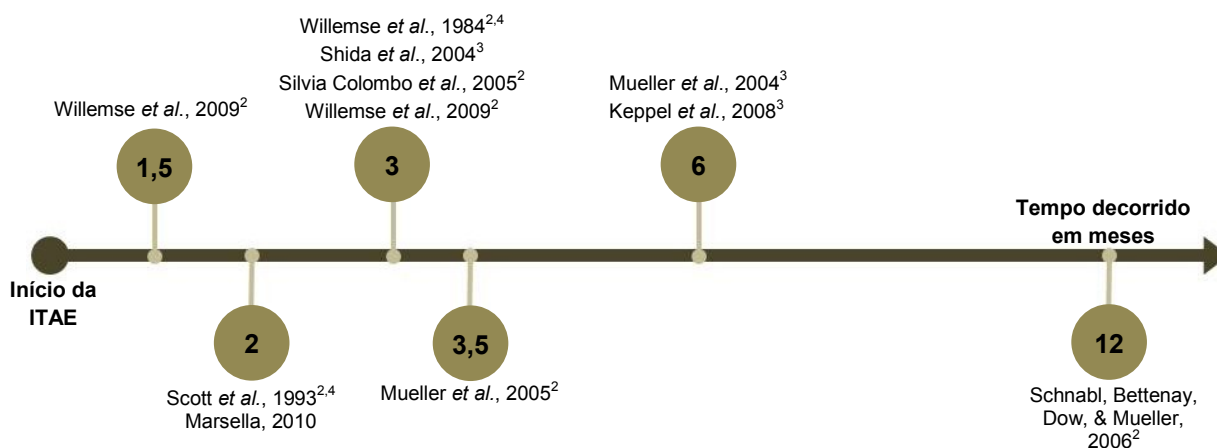
A ITAE está indicada em qualquer caso de DAc em que os alérgenos causais tenham sido identificados e cujo contacto com os mesmos seja inevitável. Está ainda recomendado o recurso à ITAE sempre que o tratamento sintomático não seja eficaz ou cujos efeitos secundários sejam inaceitáveis ou impraticáveis a longo prazo, mesmo que se trate de um quadro sazonal de DAc (Griffin & Hillier, 2001).

2.2. Eficácia

A ITAE é a única forma de tratamento capaz de proporcionar um estado de remissão duradouro. A sua eficácia varia entre os 60 e os 80% e em termos clínicos traduz-se não só por uma redução do número de crises mas também por uma menor necessidade de apoio farmacológico (Colombo, Hill, Shaw, & Thoday, 2007; Zur, White, Ihrke, Kass, & Toebe, 2002). Estes resultados, obtidos em estudos abertos não controlados, parecem ser influenciados por inúmeros factores, como a prova alergológica usada no diagnóstico, o tipo de alérgenos, dose e concentração usadas, protocolo de imunoterapia, tratamentos concomitantes e critérios utilizados na avaliação da resposta (Griffin & Hillier, 2001; Loewenstein & Mueller, 2009).

Não menos importante na determinação da eficácia é o momento em que essa avaliação é feita (Figura 7). Em medicina veterinária não é ainda conhecido qual o momento indicado ou qual o tempo máximo espectável para que benefícios sejam notados (Loewenstein & Mueller, 2009). Alguns cães respondem nos primeiros 2 a 3 meses de tratamento no entanto a razão e frequência com que isto acontece não foram determinadas. Usando alérgenos precipitados em alumínio, Willemse (1984) considerou ser muito pouco provável que cães que não respondam nos primeiros 9 meses de tratamento venham a apresentar uma resposta favorável mais tarde. Os estudos que se reportam ao uso de extratos aquosos indicam que a maioria dos animais responde entre os 3 e os 12 meses de tratamento (Griffin & Hillier, 2001).

FIGURA 7 – Cronograma ilustrativo dos diferentes momentos escolhidos para a avaliação da eficácia da ITAE (meses decorridos após o início do protocolo).



Legenda: ² Protocolo convencional; ³ Protocolo rápido; ⁴ Citando, Griffin & Hillier, 2001.

Num estudo publicado em 2004 os autores chegaram à conclusão que os protocolos rápidos estão associados a taxas de sucesso superiores às dos protocolos convencionais, registando-se as melhorias nos primeiros 6 meses de tratamento (Mueller, Fieseler, Zabel, & Rosychuk, 2004). Usados, em medicina humana sobretudo na dessensibilização contra insectos, os protocolos rápidos apresentam inúmeras variações, no entanto todas elas se revelam igualmente eficazes no controlo dos sinais clínicos (Patella *et al.*, 2012).

A eficácia a longo prazo da ITAE, no Cão, nunca foi avaliada em estudos controlados. Resultados díspares, que variam entre os 4 e os 35%, provenientes de estudos não controlados com critérios não especificados estão disponíveis na literatura. No Homem, sabe-se que a ITAE em casos de hipersensibilidade a ácaros deve ser mantida por um período mínimo de 3 anos (Griffin & Hillier, 2001). É no entanto possível que durante o período de manutenção haja necessidade de alterar a composição da vacina devido a alterações no perfil de sensibilização do paciente (Marsella, 2012).

Em medicina humana grande interesse tem sido depositado na investigação de possíveis adjuvantes que permitam aumentar a imunogenicidade do alérgénio sem que contudo se aumente a sua alergenicidade, melhorando desta forma a eficácia da ITAE (Loewenstein & Mueller, 2009; Ring & Gutermuth, 2011). Os extratos precipitados em alumínio foram uma das primeiras formas encontradas para potenciar a resposta imunitária aquando da administração do alérgénio. O alumínio ao retardar a absorção do alérgénio permite aumentar a magnitude da resposta imunitária ao mesmo tempo que melhoraria a alergenicidade do extrato. Comprovadamente eficaz no tratamento de doenças respiratórias alérgicas no Homem, a sua eficácia no Cão nunca foi devidamente esclarecida (Griffin & Hillier, 2001). Da sua comparação com extratos aquosos, resultou um estudo que relata uma melhoria superior quando o adjuvante não está presente (Loewenstein & Mueller, 2009). Reiner *et al.* em 2008 utilizaram CpG oligodeoxinucleótidos como adjuvante. O CpG é um PAMP e os oligodeoxinucleótidos são pequenas moléculas de ADN que modulam a resposta imunitária inata. No seu estudo, os autores chegaram à conclusão de que o uso de CpG oligodeoxinucleótidos como adjuvante permitia não só melhorar a resposta à ITAE como também tornava o protocolo mais seguro. O uso de adjuvantes pode também ser benéfico nos casos refractários à ITAE convencional. Num estudo semelhante, Mueller, Veir, Fieseler, & Dow (2005) utilizaram uma amostra de 7 cães que, após pelo menos um ano de imunoterapia, permaneciam sintomáticos e com necessidade de apoio farmacológico regular e submeteram-nos a um novo protocolo. A vacina utilizada tinha exactamente a mesma composição à excepção do CpG, adjuvante introduzido apenas aquando o segundo protocolo. Uma redução do grau de prurido e gravidade das lesões foi observada em todos os pacientes, no entanto só 40% apresentou uma redução igual ou superior a 50% em todos os critérios utilizados. Apesar de promissores, os resultados de Mueller *et al.* (2005) estão limitados pelo tamanho da amostra e ausência de um grupo controlo.

2.3. Protocolo

São muitos os protocolos usados. As diferenças passam não só pela frequência das injeções durante a fase de indução e gestão do período de manutenção, mas também pelos alergénios, adjuvantes e vias de administração (Marsella, 2012; Muller & Kirks, 2012). Os alergénios, são talvez a variável mais estudada. As formas disponíveis no mercado, o número de alergénios a incluir na vacina ou a escolha da dose a utilizar são alguns dos aspectos a ter em consideração. Actualmente, os extratos aquosos são os mais usados, no entanto são comercializados extratos precipitados em alumínio e em emulsões. Os extratos aquosos, são absorvidos mais rapidamente, não são irritantes para os tecidos mas necessitam de doses e frequências de administração superiores (Muller & Kirks, 2012). A escolha dos alergénios a incluir na ITAE é determinante para o sucesso do tratamento. Sabe-se que a resposta à ITAE é alérgico-específica, no entanto não existe consenso na comunidade científica sobre o número de alergénios a incluir na vacina. Ainda assim, julga-se que exista um limiar acima do qual a resposta ao tratamento não melhore com a adição de mais alergénios. Este conceito reforça a necessidade de interpretar de forma rigorosa os resultados das provas alérgicas, escolhendo apenas os alergénios com relevância clínica. A maioria dos cães apresenta um perfil de sensibilização misto fazendo com que sejam incluídos na vacina extratos de pólenes e de ácaros. Esta mistura pode reduzir a eficácia da ITAE por perda de alergenidade de alguns dos extratos. Sabe-se que, extratos de ácaros podem, por acção enzimática, degradar os extratos de pólenes. Nestes casos aconselha-se a utilização de frascos independentes (Griffin & Hillier, 2001).

Por convenção, considera-se que a dose de manutenção da ITAE deverá corresponder a uma concentração que varia entre as 10 000 unidades de azoto proteico (PNU)/mL e 20 000 PNU/mL. No entanto não existe qualquer estudo que demonstre, de forma inequívoca, que estas doses são mais ou menos eficazes que quaisquer outras (Griffin & Hillier, 2001). Na Tabela 5 é apresentada uma sugestão de um protocolo convencional de ITAE (UNIVET, 2014).

TABELA 5 – Exemplo de um protocolo convencional de ITAE (UNIVET, 2014).

FRASCO I		FRASCO II		FRASCO III	
VOLUME (mL)	SEMANA	VOLUME (mL)	SEMANA	VOLUME (mL)	SEMANA
0,1	0	0,2	5	0,2	12
0,2	1	0,4	7	0,4	15
0,3	2	0,8	9	0,8	18
0,4	3			0,8	21

A par do que aconteceu em medicina humana, também em medicina veterinária começaram a ser utilizados protocolos que abreviam a fase de indução. Esta fase caracteriza-se por um aumento gradual da dose de alérgénio administrado até atingir a dose de manutenção (dose máxima de alérgénio administrada). Nos protocolos convencionais esta fase estende-se por um período de algumas semanas enquanto que, nos protocolos rápidos, são apenas alguns dias. Mais uma vez existem algumas variações e, dependendo do autor, esta fase pode ser cumprida num único dia ou estender-se por 3 a 5 dias (Calderón, Cardona, & Demoly, 2012; Griffin & Hillier, 2001). São poucos os estudos, em medicina veterinária, sobre os protocolos rápidos de ITAE. A comparação é ainda dificultada pela falta de padronização de técnicas e métodos. Também no período de manutenção algumas diferenças podem ser observadas na periodicidade com que são feitas as administrações no entanto, é determinante que nesta fase exista uma adaptação do protocolo ao paciente o que torna difícil a sua uniformização (Griffin & Hillier, 2001). Na Tabela 6 estão resumidas as principais diferenças entre os protocolos rápidos e os convencionais.

TABELA 6 – Resumo das principais diferenças entre os protocolos convencionais e rápidos de ITAE (Griffin & Hillier, 2001).

PROTOCOLO CONVENCIONAL	PROTOCOLO RÁPIDO (RUSH)
Técnica	
<ul style="list-style-type: none"> * Fase de indução estende-se por algumas semanas a meses. * Intervalo entre injeções variável. 	<ul style="list-style-type: none"> * Fase de indução concluída num único dia, geralmente, apenas algumas horas. * Injeções administradas, por norma, a cada 30 minutos.
Vantagens	
<ul style="list-style-type: none"> * Menor probabilidade de ocorrência de reacções adversas. * Não requer internamento. 	<ul style="list-style-type: none"> * Mais confortável para o animal e para o proprietário. * Fase de manutenção alcançada mais rapidamente. * Redução do número total de reacções adversas durante a fase de indução. * Maior adesão à terapêutica.
Desvantagens	
<ul style="list-style-type: none"> * Menor adesão à terapêutica. 	<ul style="list-style-type: none"> * Maior risco de reacções adversas graves. * Requer monitorização constante durante a fase de indução.

A via de administração usada mais frequentemente é a subcutânea mas várias alternativas foram sendo estudadas ao longo dos últimos anos. Foi recentemente demonstrado que, tal como no Homem, também no Cão a administração sublingual de ITAE é segura, bem tolerada e eficaz no manejo da DAc (Marsella, 2012). Em 2001, Mueller & Bettenay optaram pela via intradérmica quando procuravam avaliar a segurança de um protocolo rápido de ITAE. Nesse mesmo estudo uma maior incidência de reacções adversas foi observada.

2.4. Reacções adversas

A presença de prurido no local de administração durante a fase de indução é a reacção adversa à administração da ITAE mais comum no Cão (Loewenstein & Mueller, 2009). Ainda assim, são muito raros os casos em que se desenvolvem reacções adversas à administração de imunoterapia (Griffin & Hillier, 2001). A incidência referida na literatura varia entre 5 e 50% para protocolos convencionais (Loewenstein & Mueller, 2009). No entanto não existe uma uniformização de protocolos ou alergénios que permita estabelecer uma comparação directa entre resultados.

As reacções mais frequentes são locais e a sua resolução passa normalmente pela administração de anti-inflamatórios e suspensão, temporária, do protocolo. Prurido, eritema e edema são os efeitos mais comumente descritos (Griffin & Hillier, 2001). As reacções sistémicas ocorrem em aproximadamente 1% dos casos e incluem, entre outras, fraqueza, prostração, reacções urticariformes ou angioedema (Loewenstein & Mueller, 2009).

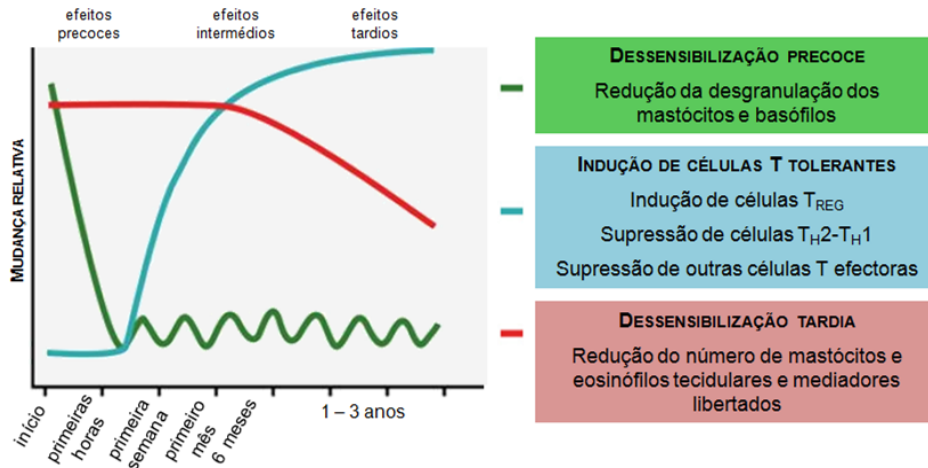
Não existe, até ao momento, evidência de que os protocolos rápidos apresentem um risco de reacções adversas superior ao já referido para os protocolos convencionais. Os protocolos rápidos podem por isso ser considerados uma alternativa segura aos protocolos convencionais (Mueller & Bettenay, 2001; Muller & Kirks, 2012).

2.5. Mecanismos de ação da ITAE

2.5.1. Dessensibilização precoce

A ITAE promove, desde a primeira administração, uma redução da actividade dos mastócitos e dos basófilos (Figura 8). Esta quebra é expressa através de uma redução da desgranulação que se deve a um aumento do limiar de desgranulação mas também à diminuição da quantidade de mediadores libertados. Estes efeitos são tão mais marcados quanto mais próximas forem as administrações da vacina durante a fase de indução (Akdis & Akdis, 2011).

FIGURA 8 – Representação esquemática das alterações imunológicas que ocorrem durante o curso de um protocolo de ITAE (adaptado de Akdis & Akdis, 2011).



Num trabalho recente, Čelesnik *et al.*, (2012) demonstraram que a diminuição da expressão do receptor de alta afinidade para a IgE (FcεRI) – expresso à superfície dos mastócitos e basófilos – está associado à dessensibilização de basófilos após ITAE e que essa dessensibilização parece ser, ainda, superior com os protocolos rápidos (Čelesnik *et al.*, 2012). Resultados semelhantes foram obtidos por MacGlashan (2012) em experiências desenvolvidas *in vitro*.

Desde uma fase muito precoce que a indução de linfócitos T circulantes tolerantes é determinante para que se atinja um estado de tolerância imunitária alérgénio-específica (Burks *et al.*, 2013). Na sequência do trabalho desenvolvido por Möbs *et al.* (2010) que demonstraram a presença de células T_R1 alérgénio-específicas no final da fase de indução de um protocolo de ITAE, Bussmann *et al.* (2010) chegaram à conclusão que a redução dos níveis séricos de triptofano, que ocorre algumas horas após a primeira injeção, associada ao aumento da concentração de IL-10 ao longo da fase de indução constituem dois bons indicadores da indução de tolerância, podendo por isso ser considerados marcadores de uma resposta precoce à ITAE.

2.5.2. Resposta celular: os linfócitos T_{REG} e a IL-10

Os linfócitos T $CD4^+$ são muito importantes na regulação de uma resposta imunitária saudável. Dentro deste grupo de células linfoides $CD4^+$ os linfócitos T_H e os T_{REG} são aqueles que mais atenção merecem quando falamos de doenças alérgicas. Com um perfil de citocinas próprio, entre os diferentes subtipos de linfócitos T_H , são essencialmente os T_H1 e T_H2 que desempenham um papel central na DAc. Também os linfócitos T_{REG} podem ser de diferentes subtipos, com fenótipos e mecanismos de acção distintos. Seleccionados no timo, os linfócitos $T_{REG} CD4^+CD25^+FoxP3^+$ são os únicos que ocorrem naturalmente no organismo; os outros subtipos, com origem nos órgãos linfoides periféricos, apenas ocorrem

se a sua produção for estimulada, são exemplo os linfócitos T_R1 responsáveis entre outras coisas pela secreção de IL-10 e TGF- β (Akdis *et al.*, 2005; Ozdemir, Akdis, & Akdis, 2009). Longe de estar totalmente compreendido o efeito que a ITAE tem nas células linfóides, alguns mecanismos estão já identificados. Uma das principais alterações observadas é o desvio para uma resposta T_H1 . Esta alteração decorre do aumento do rácio interferão gama (IFN- γ)/IL-4. No Cão, esta alteração resulta, exclusivamente, do aumento da produção de IFN- γ pelos linfócitos T_H1 , uma vez que não há alteração na produção de IL-4, a cargo dos linfócitos T_H2 . Contrariamente às conclusões de Shida *et al.* (2004), no Homem o aumento do rácio IFN- γ /IL-4 é justificado pela diminuição dos níveis de IL-4 podendo esta estar, ou não, associada a um aumento dos níveis de IFN- γ . Estas alterações não parecem ser influenciadas pelo tipo de protocolo e estão presentes apenas durante o período de indução (Benjaponpitak *et al.*, 1999; Lack *et al.*, 1997). As capacidades imunomoduladoras do IFN- γ são alergénio-específicas uma vez que apenas são inibidas as células que tenham sido previamente activadas pelo alergénio veiculado pela ITAE expressando desta forma mais receptores para o IFN- γ . O IFN- γ pode modular a resposta imunitária de várias formas, entre as quais (Lack *et al.*, 1997):

- i) inibição de linfócitos B activados, via IL-4;
- ii) inibição da proliferação de linfócitos T_H2 ;
- iii) inibição da diferenciação e desgranulação de mastócitos;
- iv) interferência no recrutamento e desgranulação de eosinófilos.

Além de restituir o domínio dos linfócitos T_H1 , a ITAE promove, logo numa fase inicial, a activação e diferenciação de linfócitos T_{REG} alergénio-específicos responsáveis pela produção de citocinas com fortes propriedades supressoras (IL-10 e TGF- β) (Jutel, Akdis, Blaser, & Akdis, 2006; Ozdemir *et al.*, 2009). O aumento dos níveis de IL-10 bem como a produção sustentada de TGF- β são determinantes para alcançar um estado de tolerância imunitária estável e duradouro (Taher, Henricks, & van Oosterhout, 2010). A IL-10 é produzida em grande quantidade pelos linfócitos T_R1 mas pode ainda ser sintetizada e secretada por monócitos, células dendríticas e outros linfócitos (M. Akdis *et al.*, 2005; Jutel *et al.*, 2006).

A IL-10 promove o desvio para uma resposta do tipo T_H1 através da regulação da produção de citocinas – inibe os linfócitos T_H2 (IL-5 e IL-13) e estimula os linfócitos T_H1 (IFN- γ). Julga-se que a supressão dos linfócitos T_H2 preceda a estimulação dos T_H1 uma vez que a ITAE torna as células produtoras de IL-4 mais susceptíveis à apoptose quando expostas ao alergénio causal (Norman, 2004). Crucial na resposta à ITAE, a interacção entre os linfócitos T_{REG} e a IL-10 está longe de estar compreendida. Sabe-se que a IL-10 tem uma acção autócrina, que com a ITAE aumenta a proliferação de linfócitos T_R1 e T_{REG} FoxP $^{3+}$, apesar de ser inibida a diferenciação de linfócitos T alergénio-específicos e que a capacidade supressiva destes linfócitos T_{REG} está melhorada (C. A. Akdis & Akdis, 2009). A IL-10

apenas inibe um grupo, restrito, de linfócitos T que usam os receptores CD2, CD28 e ICOS nas suas vias de sinalização (Ozdemir *et al.*, 2009). De forma indirecta, a IL-10 pode ainda influenciar a actividade dos linfócitos T_R1 ao inibir moléculas do complexo maior de histocompatibilidade de classe II das células dendríticas o que reduz a capacidade de apresentação antigénica destas células (C. A. Akdis & Akdis, 2009). Também a produção de anticorpos alérgico-específicos, é regulada pelos linfócitos T_R1 e IL-10. A ITAE promove um aumento da produção de IgG4 e simultaneamente inibe a síntese de IgE, total e alérgico-específica (Tabela 7) (Ozdemir *et al.*, 2009).

Relativamente ao TGF- β , ele está negativamente correlacionado com a gravidade da DA (Samochocki *et al.*, 2012). Esta citocina além de promover (directa e indirectamente) a diferenciação de novos linfócitos T_{REG} FoxP³⁺ e induzir a expressão de IL-10, inibe a produção de IgE, estimula a produção de IgA e reduz a expressão do Fc ϵ RI pelas células de Langerhans (Fujita, Soyka, Akdis, & Akdis, 2012; Jutel *et al.*, 2006; Taher *et al.*, 2010).

TABELA 7 – Resumo das principais características e funções da IL-10.

INTERLEUCINA 10	
Família	Interleucina de tipo II. Inicialmente descrita como factor inibidor da síntese de citocinas, do inglês <i>cytokine synthesis inhibitory factor</i> (CSIF) (Ouyang, Rutz, Crellin, Valdez, & Hymowitz, 2011) Da família fazem parte: IL-10; IL-19; IL-20; IL-22; IL-24; IL-26; IL-28A; IL-28B; IL-29 (Hofmann, Rösen-Wolff, Tsokos, & Hedrich, 2012)
Estrutura	Homodímero. (M. Akdis <i>et al.</i> , 2011)
Síntese	Linfócitos (T _{REG} , T _H , B _{REG}), células NK, monócitos, mastócitos, eosinófilos, macrófagos, células dendríticas, queratinócitos (Hofmann <i>et al.</i> , 2012; Loewenstein & Mueller, 2009).
Células alvo	Células NK, monócitos, mastócitos, eosinófilos, macrófagos, células dendríticas, queratinócitos (M. Akdis <i>et al.</i> , 2011)
Propriedades biológicas	Regulação da resposta imunitária. Inibição da actividade das células apresentadoras de antígenos. Inibição da expressão de citocinas pró-inflamatórias. Activação e diferenciação de linfócitos B, mastócitos e células NK. (Hofmann <i>et al.</i> , 2012)
Mecanismos de acção³	<ul style="list-style-type: none"> * Bloqueia as vias de sinalização CD2, CD28 e ICOS. * Inibe a maturação de células dendríticas. * Reduz a expressão do MHC de classe II e respectivo ligando nas células dendríticas e monócitos. * Reduz a libertação de citocinas pró-inflamatórias pelos mastócitos. * Inibe a IgE e induz IgG4 e IgA. * Induz células dendríticas produtoras de IL-10. * Efeito supressor sinérgico com TGF-β, CTLA-4 e PD-1.

³ Fonte: Akdis & Akdis, 2009.

2.5.3. Resposta humoral: o papel da IgG

A indução de anticorpos de bloqueio pela ITAE foi sugerida por Cooke, Barnard, Hebal, & Stull (1935) no início do século XX e associada à IgG por Lichtenstein, Norman, Winkenwerder, & Osler (1966) anos mais tarde. Inicialmente pensou-se que a acção destes anticorpos durante a ITAE se restringia ao bloqueio da activação e desgranulação de mastócitos e basófilos (Jutel *et al.*, 2006). Mas sabe-se hoje, que as suas funções são mais extensas e complexas. A IgG inibe a formação de complexos antígeno-IgE facilitadores da apresentação antigénica e previne a formação de novos linfócitos T de memória aquando a exposição ao alérgeno (Nouri-Aria *et al.*, 2004).

A descoberta, recente, de vários tipos de linfócitos B reguladores (B_{REG}) vem reforçar a ideia, já antiga, de que a resposta humoral pode ter uma contribuição importante na indução de tolerância durante a ITAE (Fujita *et al.*, 2012; Jutel *et al.*, 2006). Estes linfócitos B_{REG} têm capacidade para sintetizar IL-10, regular a activação, proliferação e manutenção de linfócitos T efectores bem como de memória. Funções em tudo semelhantes às desempenhadas pelos linfócitos T_{REG} (Fujita *et al.*, 2012). De facto, segundo van de Veen *et al.* (2013), no Homem a produção de IgG4 está cingida a linfócitos B_{REG} produtores de IL-10. A IgG4 é a subclasse de anticorpos mais estudada na resposta à ITAE. O seu aumento é inequívoco no entanto, o papel de outras IgG (IgG1, IgG2) permanece por clarificar (Möbs *et al.*, 2010).

No Cão, não é consensual que a produção de anticorpos “de bloqueio” seja determinante para o sucesso da ITAE. Contrariamente ao que se observa no Homem, foram detectadas diferenças significativas nos níveis séricos de IgG1 em cães com resposta positiva à ITAE (Lauber *et al.*, 2012; Loewenstein & Mueller, 2009) não tendo sido contudo, registadas diferenças nos níveis de IgG4 (Lauber *et al.*, 2012). Sabe-se ainda que os níveis de IgG aumentam durante a ITAE e diminuem após o seu término (Loewenstein & Mueller, 2009). Também Hou *et al.* (2005) e Hou, Griffin, & Hill (2008) registaram um aumento dos níveis de IgG total pós ITAE sem que contudo tenham sido detectadas quaisquer alterações nos níveis séricos das diferentes subclasses.

Recentemente Shamji *et al.* (2012) chegaram à conclusão que é a afinidade e capacidade inibitória da IgG4, mais que os seus níveis séricos absolutos, que determina o sucesso da ITAE. A mesma conclusão havia já sido apresentada por James *et al.* quando, em 2011, justificaram a manutenção da tolerância imunitária em pacientes a quem havido sido descontinuada a ITAE, com a persistência de IgG4 com fortes propriedades inibitórias.

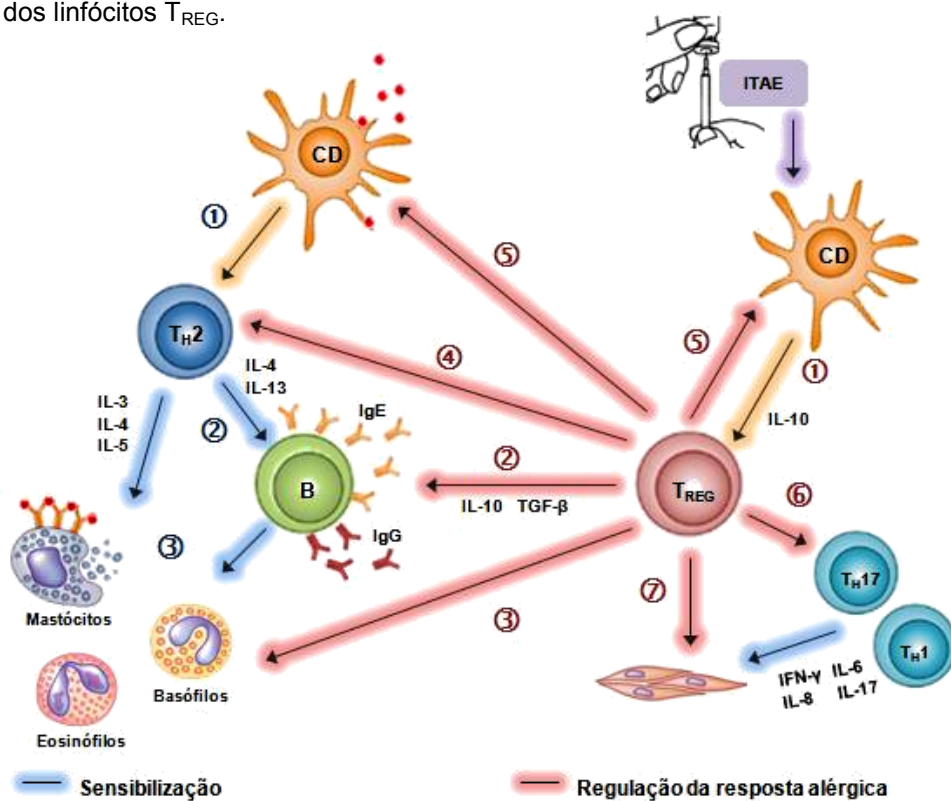
2.5.4. Regulação das células efectoras

As citocinas produzidas pelos linfócitos T_{REG} são essenciais à activação, sobrevivência e actividade de mastócitos, basófilos e eosinófilos durante a resposta inflamatória de tipo alérgico (Ozdemir *et al.*, 2009). Com a ITAE, os limiares de activação dos mastócitos e basófilos aumentam enquanto que, a quantidade de histamina e citocinas pró-inflamatórias

libertada sofre uma redução. A IL-10, secretada pelos linfócitos T_{REG} , regula a síntese de IgE (IL-13, IL-4) e a sobrevivência dos eosinófilos (IL-5) (Burks *et al.*, 2013; Jutel *et al.*, 2006; Mueller *et al.*, 2004). Não estão, ainda, totalmente esclarecidos os mecanismos inerentes a todas estas alterações no entanto, sabe-se que a desgranulação dos mastócitos é inibida, de forma directa, pela interacção dos linfócitos T_{REG} com o FcεRI expresso à superfície dos mastócitos (Burks *et al.*, 2013).

Também a actividade das células dendríticas é modulada durante a ITAE (Figura 9). A IL-10 promove a diferenciação de células dendríticas especializadas na produção de IL-10. O consequente aumento dos níveis desta citocina inibe a diferenciação e proliferação de linfócitos T. Por outro lado, os linfócitos T_{REG} formam agregados com as células dendríticas dificultando assim a apresentação antigénica e consequente activação e diferenciação de linfócitos T *naive* (Burks *et al.*, 2013; Fujita *et al.*, 2012).

FIGURA 9 – Síntese dos mecanismos de acção da imunoterapia alergénio específica: o papel central dos linfócitos T_{REG} .



Sensibilização: (1) Os antígenos capturados por células apresentadoras de antígenos (células dendríticas – CD) são apresentados a linfócitos T *naive* e induzem a diferenciação de linfócitos T_H2 . (2) As citocinas libertadas vão promover a produção de IgE alergénio-específica pelos linfócitos B. (3) A exposição repetida ao mesmo alergénio leva à activação e recrutamento de células efectoras que libertam mediadores inflamatórios responsáveis pela sintomatologia da DAC.

Regulação: (1) Paralelamente existem células dendríticas cuja função é controlar a tolerância periférica. Secretam IL-10 que induz a diferenciação de linfócitos T_{REG} . (2) IL-10 e TGF-β inibem a produção de IgE e promovem a produção de anticorpos não inflamatórios, por exemplo, IgG. (3) Supressão directa ou indirecta de mastócitos, basófilos e eosinófilos. (4) Supressão de linfócitos T_H2 efectores. (5) Supressão de células dendríticas inflamatórias. Indução de células dendríticas produtoras de IL-10. (6) Supressão de linfócitos T_H1 e T_H17 efectores. (7) Supressão da migração de linfócitos T para os tecidos. Inibição da inflamação e remodelação tissular.

2.6. O futuro da ITAE

Aproximadamente um terço dos proprietários que optam pela ITAE interrompe o tratamento por considerar que o mesmo não está a ter o efeito desejado. Esta interrupção é, geralmente, uma decisão unilateral, tomada sem aconselhamento do médico veterinário assistente (Dell *et al.*, 2012). A adesão à terapêutica aquém do espectável, e desejável, é uma consequência directa da dinâmica e mecanismos de resposta da ITAE o que torna urgente a necessidade de criar novas estratégias que contrariem esta tendência. Estas estratégias passam pelo desenvolvimento de novos protocolos, aposta em diferentes vias de administração e potenciação de extratos. Com os protocolos rápidos, além de se abreviar a fase de indução existe a possibilidade de a resposta à ITAE, ser também ela mais precoce. Assim, uma melhoria clínica é notada mais cedo, o que se traduz numa melhor qualidade de vida, também para os donos, para quem questões económicas e temporais são determinantes.

Do ponto de vista da prevenção e possibilidade de tratar de forma diferenciada diferentes apresentações clínicas está também em franco desenvolvimento, sobretudo no Homem, a identificação de fenótipos preditivos e biomarcadores.

2.6.1. Protocolos rápidos e ultra-rápidos

No Homem, a opção pelos protocolos rápidos é cada vez mais frequente. Em casos de hipersensibilidade a venenos de insectos já foram inclusive testados protocolos ultra-rápidos que se revelaram, igualmente seguros e eficazes (Patella *et al.*, 2012). Em medicina veterinária, é necessário avaliar a segurança e aplicabilidade destes protocolos ultra-rápidos.

2.6.2. Novas vias de administração

A utilização de novas vias de administração está, em medicina veterinária, limitada pela colaboração do paciente. A administração oral de ITAE foi avaliada por Marsella (2010) mas apesar de segura e bem tolerada não se revelou eficaz na redução dos sinais clínicos considerando a autora que mais estudos e diferentes concentrações devem ser avaliadas. A via intradérmica, utilizada por Mueller *et al.*, (2004) num protocolo rápido esteve associada a uma maior incidência de reacções adversas. A administração de ITAE por via sublingual revelou-se uma alternativa segura no entanto, está ainda por determinar qual a sua eficácia e compará-la à administração subcutânea (Marsella, 2012).

2.6.3. Potenciação de extratos

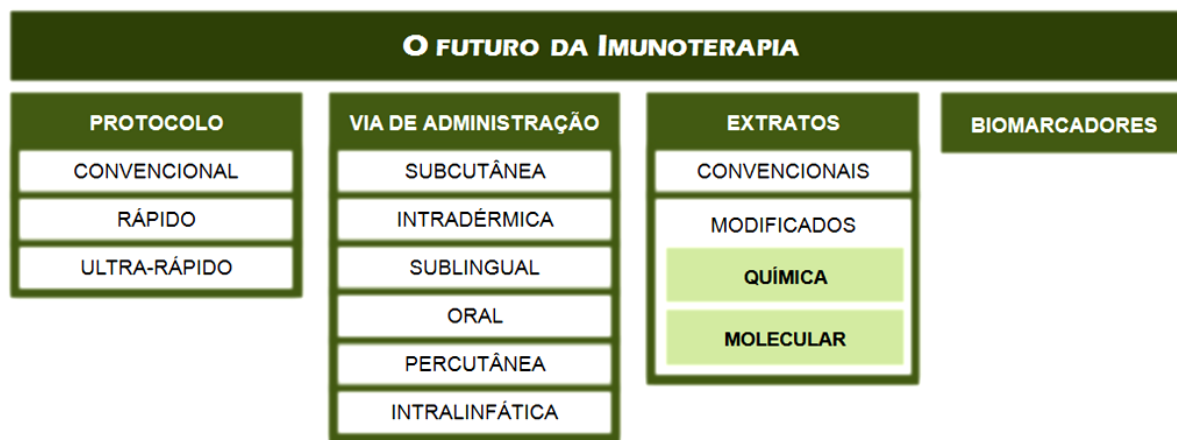
É comum recorrer a outras formas de tratamento até que sejam notados os efeitos da ITAE (Colombo *et al.*, 2007). A potenciação dos extratos, aumentando a sua imunogenicidade pode ser uma forma de aumentar a eficácia da ITAE e contornar assim este problema. Para

tal, especial atenção deve ser depositada no uso de adjuvantes, alergóides ou novas técnicas de engenharia genética (Burks *et al.*, 2013; Cox, Compalati, Kundig, & Larche, 2013).

2.6.4. Determinação de fenótipos preditivos ou biomarcadores

No Cão, existe referência a um estudo em que se relaciona o fenótipo da DAc com a resposta à ITAE. Cães com formas de DAc consideradas, por Burton & Anderson (2009), como “clássicas” - regiões da cabeça, face ventral e área interdigital afectadas - apresentaram taxas de resposta superiores aos que desenvolviam formas generalizadas - forma “clássica” mas com um envolvimento generalizado da pele, lesões estendem-se ao dorso e membros anteriores. No entanto de acordo com os critérios de Favrot, o envolvimento do dorso constitui para o clínico um alerta para a pesquisa de outras entidades clínicas que expliquem a sintomatologia ou que, estejam associadas à DAc (por exemplo, infecções cutâneas secundárias) assim sendo, mais estudos são necessários para consolidar os resultados obtidos por Burton & Anderson (2009).

FIGURA 10 – O futuro da ITAE. Diferentes áreas estão em desenvolvimento e a associação entre elas é permanentemente investigada a fim de obter protocolos cada vez mais seguros, eficazes e que proporcionem aos doentes melhorias significativas na sua qualidade de vida.



3. TRABALHO EXPERIMENTAL

3.1. Objetivos

Com o presente estudo pretende-se avaliar a eficácia de um protocolo rápido de ITAE usando parâmetros clínicos (CADESI-03 e grau de prurido) e laboratoriais (IL-10). Foram pesquisadas diferenças significativas, nos parâmetros em estudo, às 4 e 12 semanas de manutenção relativamente ao momento inicial.

3.2. Material e métodos

3.2.1. Selecção dos animais

A amostra em estudo é constituída por 14 cães, 9 fêmeas e 5 machos com uma idade média de 4,8 anos ($\pm 2,4$) (Tabela 8). Foram incluídos na amostra os cães seguidos nas consultas de dermatologia no HEFMV cujos proprietários autorizaram a inclusão no presente estudo.

TABELA 8 – Características dos animais incluídos no estudo.

n	NOME	RAÇA	IDADE	SEXO	INTEIRO	TID	AMOSTRAS		
							t0	t1	t2
1	Puka	Indeterminada	5	Fêmea	N	Ácaros + Pólenes	S	S	S
2	Cookie	Retriever do Labrador	2	Macho	S	Ácaros	S	S	S
3	Meggy	Golden Retriever	8	Fêmea	S	Ácaros + Pólenes	S	S	S
4	Bia	Retriever do Labrador	4	Fêmea	S	Ácaros	S	S	S
5	Hushi	Retriever do Labrador	6	Fêmea	S	Ácaros	S	S	S
6	Mila	Veimeriner	3	Fêmea	N	Ácaros + Epitélios	S	S	S
7	Lura	Retriever do Labrador	7	Fêmea	S	Ácaros + Pólenes	S	S	S
8	Matilde	Retriever do Labrador	8	Fêmea	S	Ácaros + Pólenes	S	S	S
9	Funk	Pastor Alemão	8	Macho	S	Ácaros + Pólenes	S	S	S
10	Micas	Beagle	5	Fêmea	S	Ácaros	S	S	N
11	Fred	Bouledogue Francês	1	Macho	S	Ácaros	S	S	N
12	Olivia	Dogue Alemão	5	Fêmea	S	Ácaros	S	S	N
13	Thor	Pastor Alemão	2	Macho	S	Ácaros	S	S	N
14	Bolinha	Indeterminada	3	Macho	N	Ácaros + Pólenes	S	S	N

Legenda: S – sim; N – não.

3.2.2. Critérios de inclusão e exclusão

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

i) Diagnóstico clínico de DAc - o diagnóstico baseado nos “critérios de Favrot” (Favrot, Steffan, *et al.*, 2010) e exclusão de principais diagnósticos diferenciais e possíveis infeções secundárias tal como recomendado pela ITFCAD (Olivry, DeBoer, *et al.*, 2010);

ii) Testes intradérmicos com resultados positivos – foi seguido o protocolo adoptado no HEFMV, já descrito (Lourenço-Martins, 2010);

iii) Exclusão de doenças parasitárias por tratamento específico – ectoparasitas foram excluídos com recurso a raspagens cutâneas e/ou tratamento específico. Este consistiu numa de duas opções: imidaclopride + moxidectina (Advocate®, Bayer) ou selamectina (Stronghold®, Pfizer), quinzenalmente, durante um período mínimo de 6 semanas. Sempre que considerado necessário o ambiente e animais em contacto foram submetidos a um programa de controlo de pulgas;

iv) Ausência de resposta positiva ou resposta parcial a ensaio alimentar – todos os animais foram sujeitos a uma dieta de eliminação, e posterior teste de provocação, para despiste de RCAOA. A dieta foi realizada por um período mínimo de 6 semanas tendo sido oferecido aos proprietários duas opções:

* dieta caseira – é usada uma fonte proteica e de hidratos de carbono com as quais o animal nunca tenha contactado anteriormente (por exemplo, carne de avestruz ou de cavalo e a abóbora ou a batata doce);

* dieta comercial – as proteínas utilizadas encontram-se hidrolisadas (Hill's z/d ultra®, Purina HA® ou Royal Canin hypoallergenic®);

v) Opção pelo protocolo rápido de ITAE.

CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

i) Abandono do estudo por decisão do proprietário;

ii) Incumprimento do protocolo de ITAE – desenvolvimento de reacção adversa durante a fase de indução, interrupção do protocolo, falha na data prevista para reavaliação;

iii) Desenvolvimento de doença concomitante, de origem cutânea ou não;

iv) Utilização de qualquer outro fármaco não mencionado nos tratamentos concomitantes a seguir descritos.

3.2.3. Tratamentos concomitantes

Todos os animais receberam uma aplicação mensal de antiparasitário externo durante o protocolo de ITAE. Infeccções secundárias (piodermite, dermatite a *Malassezia spp.*, otite bacteriana ou a *Malassezia spp.*) quando presentes foram resolvidas recorrendo a

tratamento tópico e/ou sistémico. Antibioterapia empírica (amoxicilina + ácido clavulânico) foi prescrita no entanto, nos casos em que a citologia cutânea revelou a presença de bastonetes intracelulares e sempre que não houve reposta ao antibiótico previamente prescrito, a escolha do antibiótico foi efectuada com base nos resultados de cultura bacteriana e teste de susceptibilidade a antibióticos. Nos casos em que *Malassezia spp.* estava envolvida utilizaram-se antifúngicos tópicos (miconazol, clotrimazol) e antifúngicos sistémicos, nomeadamente o itraconazol. Foi permitida a aplicação de aceponato de hidrocortisona a 0,0584% (Cortavance®, Virbac) ou prednisolona na dose anti-inflamatória (0,5mg/Kg/SID-BID) por um período máximo de 3 dias, em caso de o animal estar muito desconfortável, e na condição de não anteceder ou se seguir à ITAE por um período de uma semana. Pediu-se ainda aos proprietários para registarem estas administrações a fim de as comunicarem mais tarde.

3.3. Imunoterapia alérgénio-específica

3.3.1. Vacina

Utilizou-se uma vacina aquosa estéril (0,5% cloreto de sódio, 0,4% fenol) contendo uma mistura dos alérgénios identificados nos TID. Formulada no Laboratório de Farmacologia e Toxicologia da Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa (Serviço de Imunoalergologia). Apenas foram incorporados na vacina os alérgénios que o Médico Veterinário assistente determinou serem importantes para o quadro clínico de cada animal e sempre que do grupo de alérgénios faziam parte ácaros e pólenes foram criados frascos independentes para cada um deles (Figura 11). Os extratos comerciais de alérgénios e o solvente utilizado nos testes intradérmicos e ITAE são da Greer Laboratories® (Lenoir, Carolina do Norte, E.U.A.). Foram incluídos nas vacinas alérgénios pertencentes aos seguintes grupos: ácaros, pólenes e epitélios de acordo com o perfil de sensibilização de cada indivíduo e relevância clínica do alérgénio em questão. O número de alérgénios incorporados na vacina variou entre 1 e 17 com uma média de 4,9 alérgénios/vacina ($\pm 3,8$).

FIGURA 11 – Imunoterapia alérgénio-específica: exemplo dos frascos e código de cores utilizados. Frascos independentes foram usados em cães com um perfil de sensibilização misto.



3.3.2. Protocolo

Os animais admitidos no presente estudo foram todos eles submetidos a um protocolo rápido de ITAE. A fase de indução, ao longo da qual se aumentou progressivamente a concentração de alérgénio (concentração inicial: 100 PNU/mL, concentração final: 10.000 PNU/mL), teve a duração de 5 horas (Tabela 9).

TABELA 9 – Protocolo rápido de ITAE utilizado no trabalho.

FASE DE INDUÇÃO			FASE DE MANUTENÇÃO
	Frasco I (100 PNU/mL)	Frasco II (1.000 PNU/mL)	Frasco III (10.000 PNU/mL)
Volume (mL)	0,1 ; 0,2 ; 0,3 ; 0,4	0,2 ; 0,4 ; 0,8	0,2 ; 0,4 ; 0,8
Intervalo entre administrações		30 minutos	Um mês
Duração		5 horas	A definir pelo clínico

Devido ao risco acrescido de reacções adversas durante a fase de indução, descrito na literatura, foi exigido jejum de 8 horas de sólidos e líquidos e o procedimento realizado em ambiente hospitalar.

Antes de iniciar o protocolo todos os animais foram submetidos a um exame de estado geral e foi colocado um cateter venoso. Os cães foram regularmente monitorizados (cor das mucosas, tempo de repleção capilar, frequência cardíaca, frequência respiratória e pulso) e o responsável pelo procedimento teve ao seu dispor um *kit* de emergência que incluía a dose de adrenalina para cada animal. A alta foi concedida uma hora após a administração da última injeção.

Em caso de reacção adversa, o procedimento foi interrompido e os animais concluíram o tratamento seguindo o protocolo convencional sendo por isso excluídos do estudo.

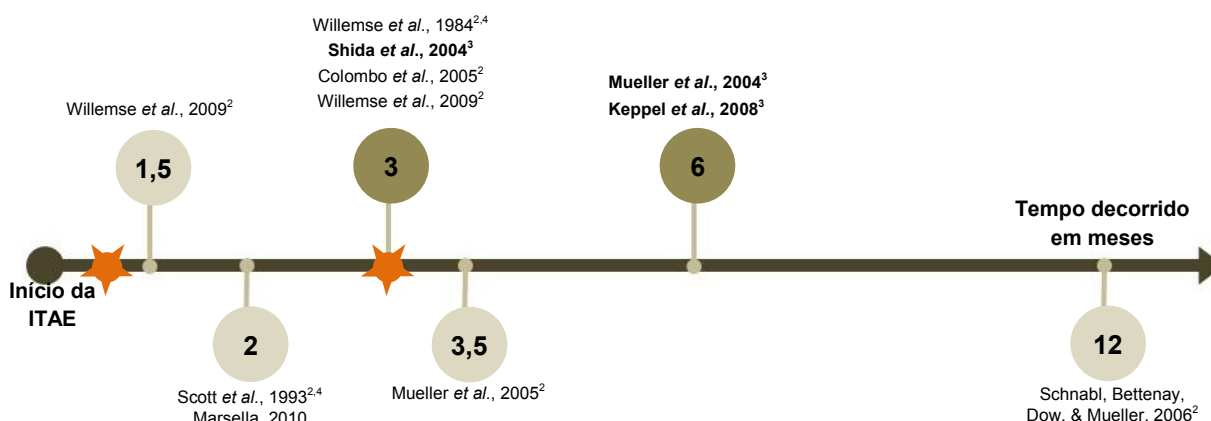
3.3.3. Amostras – recolha, processamento e armazenamento

Foram colhidos 3mL de sangue para tubo seco imediatamente antes do início do protocolo de ITAE, de agora em diante mencionado como t0. A colheita foi repetida no 1º e 3º mês de manutenção, t1 e t2 respectivamente, antes da administração da ITAE. Por limitações de tempo e da técnica utilizada na determinação da IL-10 a amostra em t2 é composta apenas por 9 cães. Todas as amostras foram centrifugadas até ao máximo de duas horas após a colheita e o soro armazenado em tubos *ependorf* a -20°C até ao momento da análise.

3.3.1. Reavaliação

Os cães foram avaliados no momento inicial, antes do início do protocolo, e no 1º e 3º mês de manutenção (Figura 12). Em todos os momentos foi preenchida a escala de CADESI-03 (*Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index - third version*)¹ (Anexo V) e os donos tiveram oportunidade de classificar, com recurso a uma escala visual (Anexo VI), o grau de prurido e desconforto do seu cão.

FIGURA 12 – Comparação entre os tempos escolhidos para reavaliação no presente trabalho e o descrito na literatura.



Legenda: ² Protocolo convencional; ³ Protocolo rápido; ⁴ Citando, Griffin & Hillier, 2001.

3.3.2. Quantificação de IL-10

Para determinar a concentração sérica de IL-10 foi utilizado soro obtido conforme descrito anteriormente. Recorreu-se a um teste ELISA específico para IL-10 canina disponível no mercado (QuantikineTM canine IL-10 immunoassay, R&D Systems, Minneapolis, MN). Todas as amostras foram analisadas em duplicado de acordo com as instruções do fabricante.

3.3.3. Análise estatística

Os resultados obtidos foram tratados com o programa R[®]. Na análise estatística foi utilizado o teste de Wilcoxon, um teste não paramétrico para amostras emparelhadas que não seguem uma distribuição normal. Para todas as análises foi considerado significativo um valor de $p \leq 0,05$.

¹ Foi publicada em Janeiro de 2014, na revista *Veterinary Dermatology*, a quarta versão desta escala. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/vde.12107/abstract>.

3.4. Resultados

3.4.1. Imunoterapia alérgénio-específica: registo de reacções adversas a um protocolo rápido

Nenhum dos cães incluídos na amostra exibiu qualquer reacção adversa durante o protocolo rápido de ITAE.

3.4.2. Evolução do valor de CADESI-03 e grau de prurido

O valor de CADESI-03 (Gráfico 1) e grau de prurido (Gráfico 2) foram avaliados em três momentos distintos (t0, t1 e t2). Ao longo do tempo, os parâmetros CADESI-03 e grau de prurido registaram uma redução do seu valor médio (Tabela 10).

GRÁFICO 2 – Valores de CADESI-03 na amostra ao longo do tempo.

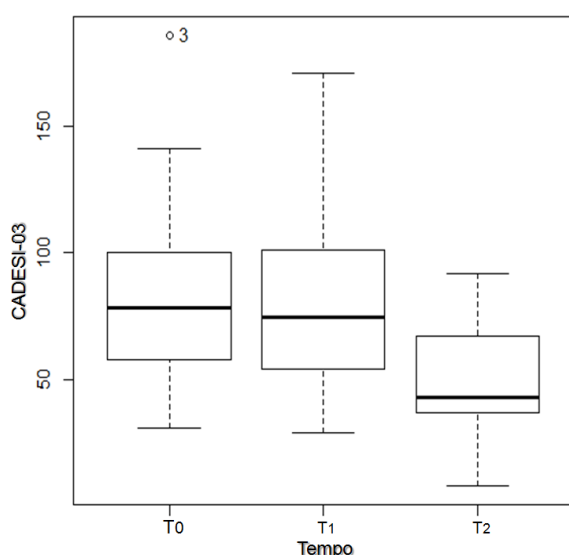


GRÁFICO 1 – Valores de grau de prurido na amostra ao longo do tempo.

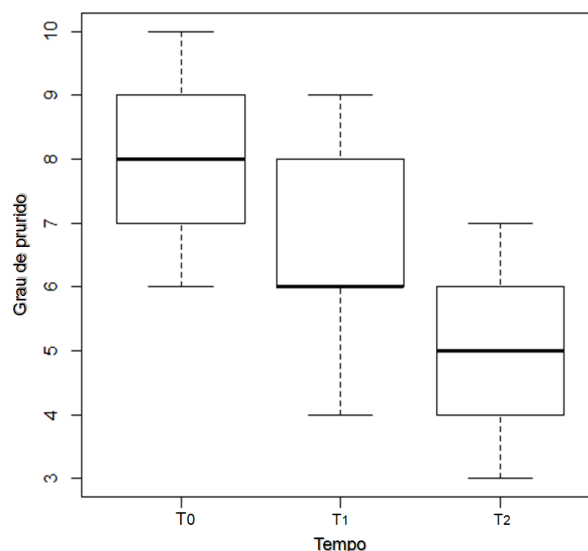


TABELA 10 – Resultados obtidos para o valor de CADESI-03 e grau de prurido.

	CADESI-03			Grau de prurido		
	T0	T1	T2	T0	T1	T2
<i>n</i>	14	14	9	14	14	9
Média	84,1	79,1	49,4	8,1	6,8	5,1
Desvio-padrão	42,8	39,2	26,7	1,3	1,7	1,4
Mediana	78,5	74,5	43	8	6	5

Na amostra em estudo, diferenças estatisticamente significativas no valor de CADESI-03 foram observadas após 3 meses de tratamento (t2) ($p \leq 0,05$) no entanto, para o grau de

prurido, as diferenças são estatisticamente significativas desde o primeiro mês de manutenção ($p \leq 0,05$) (Tabela 11). Os valores de CADESI-03 e grau de prurido registrados estão discriminados de forma detalhada no Anexo VII.

TABELA 11 – Comparação do valor de CADESI-03 e grau de prurido ao longo do tempo relativamente ao momento inicial.

Valor de p		
	T1	T2
Prurido	0,0209	0,0079
CADESI-03	0,1398	0,0039

3.4.3. Concentração de IL-10

Foi feita a determinação da concentração de IL-10 em todas as amostras recolhidas ($n=14$) conforme indicado na Tabela 8. Na Tabela 12 são apresentadas as concentrações séricas de IL-10 obtidas no primeiro dia de leituras ($n=3$). As amostras processadas no segundo dia ($n=11$) revelaram, todas elas, uma concentração de IL-10 inferior a 2pg/mL.

TABELA 12 – Concentração sérica de IL-10 obtida na amostra.

CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE IL-10 (pg/mL)			
	T0	T1	T2
Puka	22,5	5,81	27,8
Cookie	50,9	87,4	133
Bolinha	247	433	n.a.

n.a. – não aplicável

3.5. Discussão

Um dos objectivos desta dissertação era perceber qual a evolução dos níveis de IL-10 durante um protocolo rápido de ITAE e determinar se numa fase precoce do tratamento já seria possível identificar diferenças estatisticamente significativas nos níveis desta citocina relativamente ao momento inicial. Uma vez que estão disponíveis da literatura (Felix *et al.*, 2013; Keppel *et al.*, 2008; Kjelgaard-Hansen, Luntang-Jensen, Willesen, & Jensen, 2007) valores de IL-10 para cães saudáveis e cães atópicos que poderiam ser utilizados como referência não considerámos necessária a inclusão de um grupo referência no estudo.

Os estudos publicados até ao momento que avaliaram a eficácia dos protocolos rápidos de ITAE em cães, apontam a barreira dos 6 meses como o período necessário até que sejam notadas melhorias clínicas (Mueller *et al.*, 2004). Keppel *et al.*, (2008) descreveram diferenças significativas nos níveis séricos de IL-10, relativamente ao grupo referência, aos 6 meses de tratamento o que corresponde, no protocolo utilizado, a 18 semanas de manutenção. Assim, e uma vez estarmos a avaliar a eficácia de um protocolo mais rápido que o utilizado por Keppel *et al.*, (2008), decidimos tomar como ponto de referência as 12 semanas de manutenção (t2). O ponto intermédio (t1) permitiria ainda perceber qual a cinética dos níveis de IL-10 após a fase de indução.

Dada a falta de informação e estudos sobre os mecanismos de acção da ITAE em medicina veterinária, é difícil estabelecer os momentos de reavaliação. Poder-se-á dizer que, idealmente, se deveriam ter recolhido amostras nos primeiros dias e/ou semanas após a indução de forma a acompanhar os mecanismos precoces de dessensibilização. Mais uma vez, questões relacionadas com o bem-estar do paciente e disponibilidade dos proprietários se impuseram além das limitações económicas inerentes à técnica utilizada na medição da IL-10.

Relativamente à determinação da concentração de IL-10 nas amostras, foi decidido, *a priori*, que as mesmas seriam processadas em dois dias distintos. Esta decisão baseou-se no facto de não sabermos exactamente quais as concentrações prováveis de IL-10 nas amostras, dada a variabilidade descrita em alguma da bibliografia (Felix *et al.*, 2013). Dependendo dos resultados obtidos no primeiro dia poderia ser necessário reajustar o protocolo original fornecido pelo fabricante. Assim, e por questões que se prenderam com a dinâmica de trabalho no laboratório e duração do ensaio, não foi possível realizar os dois ensaios num único dia.

Todos os cães utilizados no presente estudo são seguidos nas consultas de Dermatologia do HEFMV. O estudo foi concebido de forma a não perturbar a vida do paciente e do dono pelo que a recolha de amostras e reavaliação corresponderam aos dias estabelecidos no protocolo para a administração das doses manutenção. Foi permitida a administração de antibióticos e glucocorticóides por ser por nós considerado inviável assegurar o conforto e qualidade de vida de alguns dos cães sem o recurso aos mesmos. A utilização dos últimos

foi no entanto limitada e registada. Acresce ainda o facto de não ser compreendida qual a influência que este grupo farmacológico tem sobre a eficácia da ITAE. Foi no entanto, deixado claro perante os donos que o recurso aos fármacos deveria ser evitado e utilizada a menor dose eficaz durante o menor tempo possível (limite máximo de 3 dias). Foi efectuado o registo dos tratamentos administrados.

3.5.1. Imunoterapia alérgico-específica: reacções adversas a um protocolo rápido

Nenhum cão exibiu durante o protocolo rápido de ITAE qualquer sinal sugestivo de stress (taquicardia, taquipneia, agitação, agressividade) ou reacção de hipersensibilidade (aumento do prurido, reacção urticariforme, angioedema). Apesar de estar a ser analisada uma amostra cuja dimensão pode ser considerada reduzida (n=14) para determinar a segurança de um protocolo, os nossos resultados são concordantes com a informação disponível na bibliografia (Loewenstein & Mueller, 2009; Mueller & Bettenay, 2001; Trimmer, Griffin, Boord, & Rosenkrantz, 2005). Uma maior incidência de reacções adversas foi registada por Mueller & Bettenay (2001) no entanto, apesar de se tratar de um protocolo rápido, é provável que o elevado número de reacções adversas registado se tenha ficado a dever à via de administração escolhida (intradérmica) e não ao tipo de protocolo. Sabe-se que, idealmente, a via escolhida para administração da ITAE deverá ser rica em células dendríticas mas com uma baixa densidade de mastócitos e vasos sanguíneos (Cox *et al.*, 2013). Na derme, é possível encontrar estes três elementos em grande quantidade o que pode justificar as reacções adversas observadas por Mueller & Bettenay (2001).

3.5.2. Evolução do valor de CADESI-03 e grau de prurido

Foram registadas reduções estatisticamente significativas dos parâmetros clínicos utilizados (CADESI-03 e grau de prurido) após um mês de tratamento. Uma redução estatisticamente significativa no grau de prurido foi registada logo no primeiro mês de manutenção (t1) e acentuada no terceiro mês (t2). Para o valor de CADESI-03, as diferenças tornaram-se estatisticamente significativas após 3 meses de manutenção. A avaliação das lesões e preenchimento da escala de CADESI-03 foi realizada sempre pelo mesmo operador dada a influência que o mesmo pode ter sobre a classificação atribuída às lesões.

Uma redução mais precoce no grau de prurido relativamente ao valor de CADESI-03 poderá ser justificada pelo facto de a inibição dos mecanismos de acção do prurido ocorrer antes de uma resolução das lesões cutâneas, processo naturalmente mais demorado e passível de complicações externas (por exemplo, infecções cutâneas secundárias). Apesar de não ser ainda compreendido o exacto mecanismo de acção do prurido no Cão, julga-se que este

possa resultar da acção de inúmeros mediadores inflamatórios (histamina, tripsina, leucotrienos, prostaglandinas) sobre as terminações nervosas ao nível da derme (Metz, Grundmann, & Ständer, 2011). O oclacitinib, fármaco recentemente lançado no mercado, é muito eficaz no manejo do prurido (Cosgrove et al., 2013). Inibe as citocinas produzidas via JAK-1, nomeadamente a IL-31, citocina associada à patogénese do prurido no Cão (Gonzales et al., 2013). No entanto não está demonstrado se o seu efeito biológico é consequência directa da inibição apenas desta citocina ou de um conjunto de citocinas JAK-1 (IL-2, IL-4, IL-6, IL-13, IL-31). Pouco se conhece dos mecanismos de resposta à ITAE, no que à patogénese do prurido diz respeito pelo que a explicação para uma redução tão precoce do grau de prurido poderá ou não estar relacionada com o aumento dos níveis séricos de IL-10. Sabe-se que, a JAK-1 pode ser inibida via SOCS3 por um mecanismo de *feedback negativo*, montado em resposta ao aumento da concentração de IL-10 como forma de proteger o organismo de uma supressão excessiva do sistema imunitário (Carey, Tan, & Ulett, 2012).

De acordo com Akdis & Akdis (2009), os glucocorticóides, promovem o aumento do número e actividade das células T_R1 produtoras de IL-10, pelo que, ainda indirectamente poderão aumentar a eficácia da ITAE e assim promover uma maior e mais precoce redução dos sinais clínicos. A associação da resposta clínica ao tratamento com glucocorticóides não foi considerada por estarmos perante uma amostra muito pequena que inviabilizaria a interpretação dos resultados obtidos; por terem sido administradas doses baixas e durante curtos períodos de tempo; porque não está demonstrada qual a influência que os glucocorticóides, nomeadamente as moléculas utilizadas (aceponato de hidrocortisona a 0,0584% e prednisolona), têm na resposta à ITAE; nem qual repercussão da sua utilização sobre a eficácia do tratamento. Pensamos no entanto que seria de analisar, em estudos posteriores, e com recurso a uma amostra de dimensão adequada, qual a influência que estas e outras moléculas frequentemente administradas em simultâneo com a ITAE têm sobre a eficácia da mesma.

3.5.3. Concentração de IL-10

As amostras processadas no primeiro dia de leituras, cujos resultados estão apresentados na Tabela 12, revelaram concentrações séricas de IL-10 muito díspares. Se considerarmos apenas o momento inicial (t_0) temos: 22,5pg/mL *versus* 50,9pg/mL *versus* 247pg/mL. Para esta discrepância é muito provável que tenha contribuído o binómio tempo/temperatura a que as amostras foram submetidas. De acordo com Kenis *et al.* (2002) após 4 meses a -20°C, temperatura utilizada para conservação das amostras no presente estudo, apenas é possível recuperar 90% da amostra inicial. Assim, é provável que as concentrações de IL-10 obtidas não correspondam à concentração que estaria inicialmente presente nas amostras

uma vez que entre a recolha e a análise das mesmas decorreu um período de aproximadamente um ano. Acresce ainda o facto de as amostras do terceiro cão terem sido recolhidas e analisadas em menos de 3 meses e os níveis séricos de IL-10, neste indivíduo, serem significativamente superiores. Desta forma, é plausível especular que será a concentração mais elevada de IL-10 (247pg/mL) aquela que mais se aproxima dos valores reais o que contrariaria os resultados obtidos por Keppel *et al.* (2008). No seu estudo, cujo desenho experimental se assemelha ao trabalho por nós realizado, o grupo de cães que respondeu à ITAE, apresentou uma concentração de IL-10 de 20,49ng/L ($\pm 1,26$) no início do tratamento tendo este valor sofrido um aumento médio de 50,54ng/L ($\pm 2,40$) ao fim de 12 meses de tratamento. Neste mesmo estudo não foram encontradas diferenças nos níveis de IL-10 entre o grupo de cães atópicos e o grupo controlo (cães saudáveis) até aos 6 meses de tratamento. Se mais uma vez considerarmos que os valores de IL-10 por nós obtidos estão subestimados então, poderíamos considerar que eles estariam muito mais próximos dos resultados obtidos por Felix *et al.* (2013) que quando compararam os níveis de IL-10 em cães com demodicose pela primeira vez com cães que apresentavam a doença de forma recorrente, chegaram à conclusão que a concentração de IL-10 no segundo grupo era muito mais alta (269,4pg/mL \pm 290,8) do que no grupo que apresentava a doença pela primeira vez. A explicação encontrada aponta para a possibilidade de existirem deficiências imunitárias mais graves no segundo grupo o que explicaria a recorrência da doença (Felix *et al.*, 2013). Em relação aos três cães aqui em discussão apenas há a dizer que o indivíduo que apresenta uma maior concentração de IL-10 é também o único que já apresentou piodermite recorrente.

As amostras processadas no segundo dia de leituras revelaram concentrações de IL-10 inferiores a 2,0pg/mL, o valor médio do limite de detecção do *kit* utilizado (QuantikineTM canine IL-10 immunoassay, R&D Systems, Minneapolis, MN). Apesar de se ter obtido uma curva de calibração relativamente dentro do esperado de acordo com as indicações do fabricante, também os resultados do controlo (que permitiu validar o teste) e padrões do teste se revelaram inferiores aos obtidos no primeiro dia de leitura. Assim, é possível que a falha na leitura esteja relacionada com as amostras.

Todas as amostras, incluindo as utilizadas no primeiro dia de leituras, foram recolhidas e processadas da mesma forma. Uma vez congeladas, só foram descongeladas no dia no ensaio não havendo portanto influência do fenómeno congelação/descongelação na estabilidade da IL-10 nas amostras. De qualquer modo, está demonstrado que quatro ciclos de congelação/descongelação repetidos não influenciaram a concentração de IL-10 na amostra (Kenis *et al.*, 2002). Parece portanto que o mais provável é que, no período de tempo decorrido entre os dois dias de leituras, tenha ocorrido algum fenómeno que levou à degradação da IL-10. Sabe-se que a velocidade de degradação das citocinas é proporcional à sua concentração inicial (Kenis *et al.*, 2002). Quatro dos onze cães cujas amostras foram

utilizadas no segundo dia de leituras haviam começado o tratamento há menos de três meses pelo que não se coloca a questão de, nestes quatro indivíduos, ter ocorrido degradação de IL-10 por conservação das amostras a -20°C. No entanto é possível que a provável concentração superior de IL-10 tenha facilitado a degradação desta citocina. Kenis *et al.*, (2002) avaliaram ainda um conjunto de condições stressantes que levariam à degradação da IL-10. Amostras de soro não congelado sofreram uma degradação superior a 90% quando expostas a temperaturas superiores a 30°C durante três semanas ou apenas 10 dias se temperatura igual ou superior a 40°C. Não foi no entanto avaliada qual a velocidade ou grau de degradação de amostras submetidas às mesmas condições de stress mas que houvessem sido previamente congeladas. Assim, apesar do congelador utilizado não estar equipado com um sistema de segurança em caso de falha energética não consideramos possível que as amostras recolhidas tenham sido submetidas a temperaturas tão elevadas. No entanto, não sabemos qual a influência que a congelação tem sobre a velocidade de degradação da IL-10 pós-descongelação o que poderá justificar as concentrações, inesperadamente baixas, nas amostras processadas no segundo dia de leituras. Problemas semelhantes, envolvendo outros *kits* de ELISA, do mesmo fabricante, para detecção de IL-4 e INF- γ foram recentemente descritos (Pereira, 2013)

Outros factores podem ter contribuído para esta situação nomeadamente, erros cometidos pelo operador durante a execução da técnica. Contudo, é importante referir que o mesmo operador realizou os dois ensaios, foram criteriosamente respeitadas as indicações sobre preparação e manuseamento dos reagentes e a leitura da absorvância foi, nos dois ensaios, efectuada aproximadamente 20 minutos após a adicção da solução STOP. A ausência de IL-10 nas amostras poderia igualmente ser justificada por um erro de leitura do espectrofotómetro. Mais uma vez, consideramos muito pouco provável que seja este o motivo pois tal implicaria leituras ainda mais baixas para controlo e padrões o que não se verificou.

Por ser por nós considerado que a ausência de resultados se deveu, ainda que em parte, a um problema no *kit* utilizado, entrámos em contacto com o fabricante. Infelizmente, até à data não obtivemos uma resposta satisfatória por parte do mesmo não tendo por isso sido possível repetir o ensaio a fim de comprovar a veracidade dos resultados obtidos.

3.6. Conclusão

O protocolo rápido de ITAE utilizado neste estudo revelou-se uma alternativa segura aos protocolos convencionais. Apesar da periodicidade e via de administração utilizadas, os cães da amostra em estudo não exibiram qualquer sinal de stress ou desconforto.

Uma redução estatisticamente significativa dos sinais clínicos, aferida através do grau de prurido e valor de CADESI-03, foi observada na amostra após um e três meses de manutenção, respectivamente. Estas diferenças foram observadas um mês e meio mais cedo do que o descrito na literatura (Keppel *et al.*, 2008) o que poderá ser um indicador de que a resposta à ITAE será tão mais precoce quanto mais abreviada for a fase de indução.

Uma redução do grau de prurido ocorre precocemente pelo que os protocolos rápidos poderão ser uma ferramenta importante na melhoria da qualidade de vida do paciente de forma rápida e eficaz.

Para uma melhor compreensão da cinética da IL-10 durante a resposta à ITAE e determinação da sua relevância para a resposta clínica ao tratamento uma amostra de maior dimensão seria necessária, no entanto limitações económicas condicionaram o desenho experimental utilizado.

BIBLIOGRAFIA

- Aalto-Korte, K. (1995). Improvement of skin barrier function during treatment of atopic dermatitis. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 33(6), 969–72.
- Akdis, C. A., & Akdis, M. (2009). Mechanisms and treatment of allergic disease in the big picture of regulatory T cells. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 123(4), 735–46.
- Akdis, C. A., & Akdis, M. (2011). Mechanisms of allergen-specific immunotherapy. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 127(1), 18–27.
- Akdis, M., Blaser, K., & Akdis, C. A. (2005). T regulatory cells in allergy: novel concepts in the pathogenesis, prevention, and treatment of allergic diseases. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 116(5), 961–8.
- Akdis, M., Burgler, S., Cramer, R., Eiwegger, T., Fujita, H., Gomez, E., ... Akdis, C. A. (2011). Interleukins, from 1 to 37, and interferon- γ : receptors, functions, and roles in diseases. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 127(3), 701–21.e1–70.
- Andersson, T. N. (2008). *Novel allergen preparations for use in allergen-specific immunotherapy*. Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden.
- Ausiello, D., & Goldman, L. (2009). Structure of the skin. In D. Ausiello & L. Goldman (Eds.), *Cecil Medicine* (23rd ed.). Elsevier Mosby.
- Barnes, K. C. (2010). An update on the genetics of atopic dermatitis: scratching the surface in 2009. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 125(1), 16–29.e1–11.
- Benjaponpitak, S., Oro, A., Maguire, P., Marinkovich, V., DeKruyff, R. H., & Umetsu, D. T. (1999). The kinetics of change in cytokine production by CD4⁺ T cells during conventional allergen immunotherapy. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 103(3, Part 1), 468–75.
- Bousquet, J., Lockey, R., Malling, H., & WHO. (1998). Allergen immunotherapy: therapeutic vaccines for allergic diseases A WHO position paper. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 102(4, Part 1), 558–562.
- Burks, A. W., Calderón, M. A., Casale, T. B., Cox, L., Demoly, P., Jutel, M., ... Akdis, C. A. (2013). Update on allergy immunotherapy: American Academy of Allergy, Asthma & Immunology/European Academy of Allergy and Clinical Immunology/PRACTALL consensus report. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 131(5), 1288–96.e3.
- Burton, G., & Anderson, G. (2009). Allergen specific immunotherapy: does atopic phenotype affect outcome? In *Australian College of Veterinary Scientists Dermatology Chapter Science Week Proceedings 2009: Allergies: Food, Respiratory and Testing, Venom Allergy and Atopic Dermatitis* (pp. 1–14).
- Bussmann, C., Xia, J., Allam, J.-P., Maintz, L., Bieber, T., & Novak, N. (2010). Early markers for protective mechanisms during rush venom immunotherapy. *Allergy*, 65(12), 1558–65.
- Calderón, M., Cardona, V., & Demoly, P. (2012). One hundred years of allergen immunotherapy European Academy of Allergy and Clinical Immunology celebration: review of unanswered questions. *Allergy*, 67(4), 462–76.

- Carey, A. J., Tan, C. K., & Ulett, G. C. (2012). Infection-induced IL-10 and JAK-STAT: A review of the molecular circuitry controlling immune hyperactivity in response to pathogenic microbes. *Jak-Stat*, 1(3), 159–167.
- Carlotti, D. N. (2009). How to treat atopic dermatitis in dogs. *European Journal of Companion Animal Practice*, 19(3), 268–275.
- Carlotti, D. N. (2012). Tests allergologiques en dermatologie canine. In *Congrès AFVAC national PARIS 2012* (pp. 1–8).
- Čelesnik, N., Vesel, T., Rijavec, M., Šilar, M., Eržen, R., Košnik, M., ... Korošec, P. (2012). Short-term venom immunotherapy induces desensitization of FcεRI-mediated basophil response. *Allergy*, 67(12), 1594–600.
- Chervet, L., Galichet, A., McLean, W. H. I., Chen, H., Suter, M. M., Roosje, P. J., & Müller, E. J. (2010). Missing C-terminal filaggrin expression, NFκB activation and hyperproliferation identify the dog as a putative model to study epidermal dysfunction in atopic dermatitis. *Experimental Dermatology*, 19(8), e343–6.
- Colombo, S., Hill, P. B., Shaw, D. J., & Thoday, K. L. (2005). Effectiveness of low dose immunotherapy in the treatment of canine atopic dermatitis: a prospective, double-blinded, clinical study. *Veterinary Dermatology*, 16(3), 162–70.
- Colombo, S., Hill, P. B., Shaw, D. J., & Thoday, K. L. (2007). Requirement for additional treatment for dogs with atopic dermatitis undergoing allergen-specific immunotherapy. *Veterinary Record*, 160, 861–864.
- Cooke, R. A., Barnard, J. H., Hebard, S., & Stull, A. (1935). Serological evidence of immunity with coexisting sensitization in a type of human allergy (hay fever). *The Journal of Experimental Medicine*, 62(6), 733–750.
- Cosgrove, S. B., Wren, J. A., Cleaver, D. M., Martin, D. D., Walsh, K. F., Harfst, J. A., ... Stegemann, M. R. (2013). Efficacy and safety of oclacitinib for the control of pruritus and associated skin lesions in dogs with canine allergic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 24(5), 479–e114.
- Cox, L., Compalati, E., Kundig, T., & Larche, M. (2013). New directions in immunotherapy. *Current Allergy and Asthma Reports*, 13(2), 178–95.
- De Benedetto, A., Agnihothri, R., McGirt, L. Y., Bankova, L. G., & Beck, L. A. (2009). Atopic dermatitis: a disease caused by innate immune defects? *The Journal of Investigative Dermatology*, 129(1), 14–30.
- DeBoer, D. J., & Hillier, A. (2001a). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XV): fundamental concepts in clinical diagnosis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 81(3-4), 271–6.
- DeBoer, D. J., & Hillier, A. (2001b). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XVI): laboratory evaluation of dogs with atopic dermatitis with serum-based “allergy” tests. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 81(3-4), 277–87.
- DeBoer, D. J., & Marsella, R. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XII): the relationship of cutaneous infections to the pathogenesis and clinical course of canine atopic dermatitis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 81(3-4), 239–49.

- Dell, D. L., Griffin, C. E., Thompson, L. A., & Griffies, J. D. (2012). Owner assessment of therapeutic interventions for canine atopic dermatitis: a long-term retrospective analysis. *Veterinary Dermatology*, 23(3), 228–e47.
- Dip, R., Carmichael, J., Letellier, I., Strehlau, G., Roberts, E., Bensignor, E., & Rosenkrantz, W. (2013). Concurrent short-term use of prednisolone with cyclosporine A accelerates pruritus reduction and improvement in clinical scoring in dogs with atopic dermatitis. *BMC Veterinary Research*, 9(173), 1–10.
- Eichenseer, M., Johansen, C., & Mueller, R. S. (2013). Efficacy of dimetinden and hydroxyzine/chlorpheniramine in atopic dogs: a randomised, controlled, double-blinded trial. *Veterinary Record*, 173(17), 423–426.
- Elias, P. M., & Steinhoff, M. (2008). “Outside-to-Inside” (and now back to “Outside”) pathogenic mechanisms in atopic dermatitis. *Journal of Investigative Dermatology*, 128(5), 1067–1070.
- Favrot, C., Linek, M., Mueller, R. S., & Zini, E. (2010). Development of a questionnaire to assess the impact of atopic dermatitis on health-related quality of life of affected dogs and their owners. *Veterinary Dermatology*, 21(1), 63–9.
- Favrot, C., Steffan, J., Seewald, W., & Picco, F. (2010). A prospective study on the clinical features of chronic canine atopic dermatitis and its diagnosis. *Veterinary Dermatology*, 21(1), 23–31.
- Felix, A. O. C., Guiot, E. G., Stein, M., Felix, S. R., Silva, E. F., & Nobre, M. O. (2013). Comparison of systemic interleukin 10 concentrations in healthy dogs and those suffering from recurring and first time *Demodex canis* infestations. *Veterinary Parasitology*, 193(1-3), 312–315.
- Fujita, H., Soyka, M. B., Akdis, M., & Akdis, C. A. (2012). Mechanisms of allergen-specific immunotherapy. *Clinical and Translational Allergy*, 2(1), 2.
- Gonzales, A. J., Humphrey, W. R., Messamore, J. E., Fleck, T. J., Fici, G. J., Shelly, J. A., ... McCall, R. B. (2013). Interleukin-31: its role in canine pruritus and naturally occurring canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 24(1), 48–53.e11–2.
- Griffin, C. E., & DeBoer, D. J. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XIV): clinical manifestations of canine atopic dermatitis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 81(3-4), 255–69.
- Griffin, C. E., & Hillier, A. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XXIV): allergen-specific immunotherapy. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 81(3-4), 363–83.
- Halken, S. (2004). Prevention of allergic disease in childhood: clinical and epidemiological aspects of primary and secondary allergy prevention. *Pediatric Allergy and Immunology*, 15 Suppl 1(4-5), 9–32.
- Halliwell, R. (2006). Revised nomenclature for veterinary allergy. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 114(3-4), 207–208.
- Halliwell, R. (2009a). Allergic skin diseases in dogs and cats: an introduction. *The European Journal of Companion Animal Practitioners*, 19(3), 209–211.

- Halliwell, R. (2009b). The immunopathogenesis of allergic skin diseases in dogs and cats. *The European Journal of Companion Animal Practitioners*, 19(3), 213–218.
- Hillier, A. (2002). Definitively diagnosing atopic dermatitis in dogs. *Veterinary Medicine*, 198–209.
- Hillier, A., & DeBoer, D. J. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XVII): intradermal testing. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 81(3-4), 289–304.
- Hofmann, S. R., Rösen-Wolff, A., Tsokos, G. C., & Hedrich, C. M. (2012). Biological properties and regulation of IL-10 related cytokines and their contribution to autoimmune disease and tissue injury. *Clinical Immunology*, 143(2), 116–127.
- Hou, C.-C., Griffin, C. E., & Hill, P. B. (2008). Dermatophagoides farinae-specific IgG responses in atopic dogs undergoing allergen-specific immunotherapy with aqueous vaccines. *Veterinary Dermatology*, 19(4), 215–220.
- Hou, C.-C., Pemberton, A., Nuttall, T., & Hill, P. B. (2005). IgG responses to antigens from Dermatophagoides farinae in healthy and atopic dogs. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 106(1-2), 121–128.
- Jaeger, K., Linek, M., Power, H. T., Bettenay, S. V., Zabel, S., Rosychuk, R. A. W., & Mueller, R. S. (2010). Breed and site predispositions of dogs with atopic dermatitis: a comparison of five locations in three continents. *Veterinary Dermatology*, 21(1), 118–22.
- James, L. K., Shamji, M. H., Walker, S. M., Wilson, D. R., Wachholz, P. A., Francis, J. N., ... Durham, S. R. (2011). Long-term tolerance after allergen immunotherapy is accompanied by selective persistence of blocking antibodies. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 127(2), 509–516.e1–5.
- Jutel, M., Akdis, M., Blaser, K., & Akdis, C. A. (2006). Mechanisms of allergen specific immunotherapy - T-cell tolerance and more. *Allergy*, 61(7), 796–807.
- Kenis, G., Teunissen, C., De Jongh, R., Bosmans, E., Steinbusch, H., & Maes, M. (2002). Stability of interleukin 6, soluble interleukin 6 receptor, interleukin 10 and Cc16 in human serum. *Cytokine*, 19(5), 228–235.
- Keppel, K. E., Campbell, K. L., Zuckermann, F. A., Greeley, E. A., Schaeffer, D. J., & Husmann, R. J. (2008). Quantitation of canine regulatory T cell populations, serum interleukin-10 and allergen-specific IgE concentrations in healthy control dogs and canine atopic dermatitis patients receiving allergen-specific immunotherapy. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 123(3-4), 337–344.
- Kezic, S., Kemperman, P. M. J. H., Koster, E. S., de Jongh, C. M., Thio, H. B., Campbell, L. E., ... Caspers, P. J. (2008). Loss-of-function mutations in the filaggrin gene lead to reduced level of natural moisturizing factor in the stratum corneum. *The Journal of Investigative Dermatology*, 128(8), 2117–2119.
- Kjelgaard-Hansen, M., Luntang-Jensen, M., Willesen, J., & Jensen, A. L. (2007). Measurement of serum interleukin-10 in the dog. *Veterinary Journal (London, England : 1997)*, 173(2), 361–5. doi:10.1016/j.tvjl.2005.11.016
- Lack, G., Nelson, H. S., Amran, D., Oshiba, A., Jung, T., Bradley, K. L., ... Gelfand, E. W. (1997). Rush immunotherapy results in allergen-specific alterations in lymphocyte function and interferon- γ production in CD4+ T cells. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 99(4), 530–8.

- Lauber, B., Molitor, V., Meury, S., Doherr, M. G., Favrot, C., Tengvall, K., ... Marti, E. (2012). Total IgE and allergen-specific IgE and IgG antibody levels in sera of atopic dermatitis affected and non-affected Labrador and Golden retrievers. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 149(1-2), 112–8.
- Lichtenstein, L. M., Norman, P. S., Winkenwerder, W. L., & Osler, A. G. (1966). In vitro studies of human ragweed allergy: changes in cellular and humoral activity associated with specific desensitization. *The Journal of Clinical Investigation*, 45(7), 1126–1136.
- Linek, M., & Favrot, C. (2010). Impact of canine atopic dermatitis on the health-related quality of life of affected dogs and quality of life of their owners. *Veterinary Dermatology*, 21(5), 456–462.
- Loewenstein, C., & Mueller, R. S. (2009). A review of allergen-specific immunotherapy in human and veterinary medicine. *Veterinary Dermatology*, 20(2), 84–98.
- Lourenço, M. do G. M. P. de C. (2013). *Avaliação da osmolaridade da lágrima em cães atópicos com conjuntivite alérgica*. Universidade de Lisboa - Faculdade de Medicina Veterinária.
- Lourenço-Martins, A. M. (2010). *Contribuição para o estudo da dermatite atópica canina na área metropolitana de Lisboa*. Universidade Técnica de Lisboa - Faculdade de Medicina Veterinária.
- Lourenço-Martins, A. M., Peleteiro, M. C., Correia, J. H. D., & Almeida, M. M. (2010). Será o cão o melhor amigo de um atópico? *Revista Portuguesa de Imunoalergologia*, 18(5), 405–418.
- Lourenço-Martins, A. M., São-Braz, B., Schmidt, V. M., & Nutall, T. (2012). Long-term maintenance therapy of canine atopic dermatitis with a 0.0584% hydrocortisone aceponate spray (Cortavance®) used on two consecutive days each week. *Veterinary Dermatology*, 23(Suppl 1), 39 (abstract).
- MacGlashan, D. (2012). Subthreshold desensitization of human basophils recapitulates the loss of syk and FcεRI expression characterized by other methods of desensitization. *Clinical & Experimental Allergy*, 42(7), 1060–1070.
- Macheleidt, O., Kaiser, H. W., & Sandhoff, K. (2002). Deficiency of epidermal protein-bound ω-hydroxyceramides in atopic dermatitis. *The Journal of Investigative Dermatology*, 119(1), 166–173.
- Maintz, L., & Novak, N. (2007). Getting more and more complex: the pathophysiology of atopic eczema. *European Journal of Dermatology*, 17(4), 267–283.
- Marsella, R. (2010). Tolerability and clinical efficacy of oral immunotherapy with house dust mites in a model of canine atopic dermatitis: a pilot study. *Veterinary Dermatology*, 21(6), 566–571.
- Marsella, R. (2012). An update on the treatment of canine atopic dermatitis. *Veterinary Medicine: Research and Reports*, 3, 85–91.
- Marsella, R. (2013a). Does filaggrin expression correlate with severity of clinical signs in dogs with atopic dermatitis? *Veterinary Dermatology*, 24(2), 266–e59.

- Marsella, R. (2013b). Fixing the skin barrier: past, present and future - man and dog compared. *Veterinary Dermatology*, 24(1), 73–6.e17–8.
- Marsella, R., & Girolomoni, G. (2009). Canine models of atopic dermatitis: a useful tool with untapped potential. *The Journal of Investigative Dermatology*, 129(10), 2351–2357.
- Marsella, R., Nicklin, C., & Lopez, J. (2006). Studies on the role of routes of allergen exposure in high IgE-producing beagle dogs sensitized to house dust mites. *Veterinary Dermatology*, 17(5), 306–312.
- Marsella, R., Nicklin, C., & Melloy, C. (2002). The effects of capsaicin topical therapy in dogs with atopic dermatitis: a randomized, double-blinded, placebo-controlled, cross-over clinical trial. *Veterinary Dermatology*, 13(3), 131–9.
- Marsella, R., Olivry, T., & Carlotti, D.-N. (2011). Current evidence of skin barrier dysfunction in human and canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 22(3), 239–248.
- Marsella, R., Olivry, T., & Maeda, S. (2006). Cellular and cytokine kinetics after epicutaneous allergen challenge (atopy patch testing) with house dust mites in high-IgE beagles. *Veterinary Dermatology*, 17(2), 111–120.
- Marsella, R., & Samuelson, D. (2009). Unravelling the skin barrier: a new paradigm for atopic dermatitis and house dust mites. *Veterinary Dermatology*, 20(5-6), 533–540.
- Marsella, R., Samuelson, D., & Doerr, K. (2010). Transmission electron microscopy studies in an experimental model of canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 21(1), 81–88.
- Marsella, R., & Sousa, C. A. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XIII): threshold phenomenon and summation of effects. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 81(3-4), 251–254.
- Marsella, R., Sousa, C. A., Gonzales, A. J., & Fadok, V. A. (2012). Current understanding of the pathophysiologic mechanisms of canine atopic dermatitis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 241(2), 194–207.
- Matias, D. F. (2013). *Avaliação de uma nova técnica em alergologia veterinária: testes cutâneos por picada em cães*. Universidade Técnica de Lisboa - Faculdade de Medicina Veterinária.
- McEwan, N. A., Kalna, G., & Mellor, D. (2005). A comparison of adherence by four strains of *Staphylococcus intermedius* and *Staphylococcus hominis* to canine corneocytes collected from normal dogs and dogs suffering from atopic dermatitis. *Research in Veterinary Science*, 78(3), 193–198.
- Medzhitov, R., & Janeway, C. A. (2002, April 12). Decoding the patterns of self and nonself by the innate immune system. *Science*, 296(5566), 298–300.
- Metz, M., Grundmann, S., & Ständer, S. (2011). Pruritus: an overview of current concepts. *Veterinary Dermatology*, 22(2), 121–31.
- Möbs, C., Slotosch, C., Löffler, H., Jakob, T., Hertl, M., & Pfützner, W. (2010). Birch pollen immunotherapy leads to differential induction of regulatory T cells and delayed helper T cell immune deviation. *Journal of Immunology*, 184(4), 2194–2203.

- Mueller, R. S., & Bettenay, S. V. (2001). Evaluation of the safety of an abbreviated course of injections of allergen extracts (rush immunotherapy) for the treatment of dogs with atopic dermatitis. *American Journal of Veterinary Research*, 62(3), 307–310.
- Mueller, R. S., Fieseler, K. V., Zabel, S., & Rosychuk, R. A. W. (2004). Conventional and rush immunotherapy in canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 15, 4 (abstract).
- Mueller, R. S., Veir, J., Fieseler, K. V., & Dow, S. W. (2005). Use of immunostimulatory liposome-nucleic acid complexes in allergen-specific immunotherapy of dogs with refractory atopic dermatitis - a pilot study. *Veterinary Dermatology*, 16(1), 61–68.
- Muller, & Kirks. (2012). Hypersensitivity Disorders. In W. Miller, C. Griffin, & K. Campbell (Eds.), *Muller and Kirk's Small Animal Dermatology* (7th editio.). Elsevier Mosby.
- Nishifuji, K., & Yoon, J. S. (2013). The stratum corneum: the rampart of the mammalian body. *Veterinary Dermatology*, 24(1), 60–72.e15–6.
- Norman, P. S. (2004). Immunotherapy: 1999-2004. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 113(6), 1013–1023.
- Nouri-Aria, K. T., Wachholz, P. A., Francis, J. N., Jacobson, M. R., Walker, S. M., Wilcock, L. K., ... Durham, S. R. (2004). Grass pollen immunotherapy induces mucosal and peripheral IL-10 responses and blocking IgG activity. *Journal of Immunology*, 172(5), 3252–3259.
- Nuttall, T. (2013). The genomics revolution: will canine atopic dermatitis be predictable and preventable? *Veterinary Dermatology*, 24(1), 10–8.e3–4.
- Nuttall, T., McEwan, N. A., Bensignor, E., Cornegliani, L., Löwenstein, C., & Rème, C. A. (2012). Comparable efficacy of a topical 0.0584% hydrocortisone aceponate spray and oral ciclosporin in treating canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 23(1), 4–10.
- Nuttall, T., Mueller, R. S., Bensignor, E., Verde, M. T., Noli, C., Schmidt, V. M., & Rème, C. A. (2009). Efficacy of a 0.0584% hydrocortisone aceponate spray in the management of canine atopic dermatitis: a randomised, double blind, placebo-controlled trial. *Veterinary Dermatology*, 20(3), 191–198.
- Olivry, T. (2010). New diagnostic criteria for canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 21(1), 123–126.
- Olivry, T. (2011). Is the skin barrier abnormal in dogs with atopic dermatitis? *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 144(1-2), 11–16.
- Olivry, T., & Bizikova, P. (2013). A systematic review of randomized controlled trials for prevention or treatment of atopic dermatitis in dogs: 2008-2011 update. *Veterinary Dermatology*, 24(1), 97–117.
- Olivry, T., DeBoer, D. J., Favrot, C., Jackson, H. A., Mueller, R. S., Nuttall, T., & Prélud, P. (2010). Treatment of canine atopic dermatitis: 2010 clinical practice guidelines from the International Task Force on Canine Atopic Dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 21(3), 233–248.

- Olivry, T., DeBoer, D. J., Griffin, C. E., Halliwell, R., Hill, P. B., Hillier, A., ... Sousa, C. A. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis: forewords and lexicon. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 81(3-4), 143–146.
- Olivry, T., Foster, A., Mueller, R. S., McEwan, N. A., Chesney, C., & Williams, H. C. (2010). Interventions for atopic dermatitis in dogs: a systematic review of randomized controlled trials. *Veterinary Dermatology*, 21(1), 4–22.
- Olivry, T., Mueller, R. S., Nuttall, T., Favrot, C., & Prélard, P. (2008). Determination of CADESI-03 thresholds for increasing severity levels of canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 19(3), 115–119.
- Olivry, T., & Saridomichelakis, M. (2013). Evidence-based guidelines for anti-allergic drug withdrawal times before allergen-specific intradermal and IgE serological tests in dogs. *Veterinary Dermatology*, 24(2), 225–232.
- Olivry, T., & Sousa, C. A. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XIX): general principles of therapy. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 81(3-4), 311–316.
- Ouyang, W., Rutz, S., Crellin, N. K., Valdez, P. A., & Hymowitz, S. G. (2011). Regulation and functions of the IL-10 family of cytokines in inflammation and disease. *Annual Review of Immunology*, 29, 71–109.
- Ozdemir, C., Akdis, M., & Akdis, C. A. (2009). T regulatory cells and their counterparts: masters of immune regulation. *Clinical & Experimental Allergy*, 39(5), 626–639.
- Palomares, O., Yaman, G., Azkur, A. K., Akkoc, T., Akdis, M., & Akdis, C. A. (2010). Role of Treg in immune regulation of allergic diseases. *European Journal of Immunology*, 40(5), 1232–1240.
- Patella, V., Florio, G., Giuliano, A., Oricchio, C., Spadaro, G., Marone, G., & Genovese, A. (2012). Hymenoptera venom immunotherapy: tolerance and efficacy of an ultrarush protocol versus a rush and a slow conventional rotocol, 2012, 1–8.
- Pereira, J. L. G. (2013). *Infecção experimental por Trypanosoma brucei em modelo murino e estudo da eficácia farmacológica do benznidazol*. Universidade de Lisboa - Faculdade de Medicina Veterinária.
- Puigdemont, A., Brazís, P., Ordeix, L., Dalmau, A., Fuertes, E., Olivar, A., ... Ravera, I. (2013). Efficacy of a new topical cyclosporine A formulation in the treatment of atopic dermatitis in dogs. *The Veterinary Journal*, 197(2), 280–285.
- Ramsey, I. (2011). *Small Animal Formulary* (7th ed., p. 426). BSAVA.
- Reha, C. M., & Ebru, A. (2007). Specific immunotherapy is effective in the prevention of new sensitivities. *Allergologia et Immunopathologia*, 35(2), 44–51.
- Reinero, C. R., Cohn, L. A., Delgado, C., Spinka, C. M., Schooley, E. K., & DeClue, A. E. (2008). Adjuvanted rush immunotherapy using CpG oligodeoxynucleotides in experimental feline allergic asthma. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 121(3-4), 241–250.
- Ring, J., & Gutermuth, J. (2011). 100 years of hyposensitization: history of allergen-specific immunotherapy (ASIT). *Allergy*, 66(6), 713–724.

- Rocha, M. I. L. (2012). *Skin Prick Tests - preliminary evaluation of this technique for the diagnosis of canine atopic dermatitis sensitization*. Universidade Técnica de Lisboa - Faculdade de Medicina Veterinária.
- Rybníček, J., Lau-Gillard, P. J., Harvey, R., & Hill, P. B. (2009). Further validation of a pruritus severity scale for use in dogs. *Veterinary Dermatology*, 20(2), 115–122.
- Saevik, B. K., Bergvall, K., Holm, B. R., Saijonmaa-Koulumies, L. E., Hedhammar, A., Larsen, S., & Kristensen, F. (2004). A randomized, controlled study to evaluate the steroid sparing effect of essential fatty acid supplementation in the treatment of canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 15(3), 137–145.
- Samochocki, Z., Alifier, M., Boderá, P., Jeziorkowska, R., Rosiak, E., Jurkiewicz, B., ... Stankiewicz, W. (2012). T-regulatory cells in severe atopic dermatitis: alterations related to cytokines and other lymphocyte subpopulations. *Archives of Dermatological Research*, 304(10), 795–801.
- Sanchez, N., Villanueva, C., Torre, C., & Verde, M. T. (2011). Efficacy of a specific diet in the management of canine atopic dermatitis: a randomized, blinded, controlled clinical study. *Veterinary Dermatology*, 22(5), 472 (abstract).
- Schindler, C., Levy, D. E., & Decker, T. (2007). JAK-STAT signaling: from interferons to cytokines. *The Journal of Biological Chemistry*, 282(28), 1–5.
- Schmidt, V., McEwan, N., Volk, A., Helps, J., Morrell, K., & Nuttall, T. (2010). The glucocorticoid sparing efficacy of PhytosolTM in the management of canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 21(1), 96–105.
- Schnabl, B., Bettenay, S. V., Dow, K., & Mueller, R. S. (2006). Results of allergen-specific immunotherapy in 117 dogs with atopic dermatitis. *Veterinary Record*, 158(3), 81–85.
- Shamji, M. H., Ljørring, C., Francis, J. N., Calderón, M. A., Larché, M., Kimber, I., ... Durham, S. R. (2012). Functional rather than immunoreactive levels of IgG4 correlate closely with clinical response to grass pollen immunotherapy. *Allergy*, 67(2), 217–226.
- Shida, M., Kadoya, M., Park, S.-J., Nishifuji, K., Momoi, Y., & Iwasaki, T. (2004). Allergen-specific immunotherapy induces Th1 shift in dogs with atopic dermatitis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 102(1-2), 19–31.
- Simou, C., Thoday, K. L., Forsythe, P. J., & Hill, P. B. (2005). Adherence of *Staphylococcus intermedius* to corneocytes of healthy and atopic dogs: effect of pyoderma, pruritus score, treatment and gender. *Veterinary Dermatology*, 16(6), 385–391.
- Taher, Y. A., Henricks, P. J., & van Oosterhout, A. J. M. (2010). Allergen-specific subcutaneous immunotherapy in allergic asthma: immunologic mechanisms and improvement. *The Libyan Journal of Medicine*, 5, 1–11.
- Tarpataki, N. (2006). Recent developments in canine atopic dermatitis: a review. *Acta Veterinaria Hungarica*, 54(4), 473–484.
- Trimmer, A. M., Griffin, C. E., Boord, M. J., & Rosenkrantz, W. S. (2005). Rush allergen specific immunotherapy protocol in feline atopic dermatitis: a pilot study of four cats. *Veterinary Dermatology*, 16(5), 324–329.

- UNIVET. (2014). Tratamento depot de hiposensibilização. Disponível em: http://www.univet.es/port/_soporte_veterinario/PautaDepot.pdf
- Van de Veen, W., Stanic, B., Yaman, G., Wawrzyniak, M., Söllner, S., Akdis, D. G., ... Akdis, M. (2013). IgG4 production is confined to human IL-10-producing regulatory B cells that suppress antigen-specific immune responses. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 131(4), 1204–1212.
- Wilhem, S., Kovalik, M., & Favrot, C. (2011). Breed-associated phenotypes in canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 22(2), 143–149.
- Willemse, T., Bardagi, M., Carlotti, D. N., Ferrer, L., Fondati, a, Fontaine, J., ... Roosje, P. (2009). Dermatophagoides farinae-specific immunotherapy in atopic dogs with hypersensitivity to multiple allergens: a randomised, double blind, placebo-controlled study. *Veterinary Journal (London, England : 1997)*, 180(3), 337–42.
- Williams, H. C. (2013). Epidemiology of human atopic dermatitis - seven areas of notable progress and seven areas of notable ignorance. *Veterinary Dermatology*, 24(1), 3–9.
- Zur, G., White, S. D., Ihrke, P. J., Kass, P. H., & Toebe, N. (2002). Canine atopic dermatitis: a retrospective study of 169 cases examined at the University of California, Davis, 1992-1998. Part II. Response to hyposensitization. *Veterinary Dermatology*, 13(2), 103–111.

ANEXO I

TABELA 13 – Resumo das Alterações na barreira cutânea em indivíduos atópicos.

HOMEM	CÃO
Ceramidas	
<ul style="list-style-type: none"> * Redução da quantidade de ceramidas, ácidos gordos e aminoácidos hidrossolúveis presentes no estrato córneo (Macheleidt, Kaiser, & Sandhoff, 2002). * A colonização da pele por <i>Staphylococcus aureus</i> produtores de ceramidases são uma das causas para a redução da quantidade de ceramidas na epiderme de indivíduos com DA (Maintz & Novak, 2007). 	<ul style="list-style-type: none"> * A quantidade de ceramidas na pele de cães atópicos é inferior à de indivíduos saudáveis no entanto no que diz respeito ao colesterol e ácidos gordos livres os resultados são ainda contraditórios (Marsella, Olivry, & Carlotti, 2011).
Filagrina	
<ul style="list-style-type: none"> * Mutações no gene da filagrina predis põem para a sensibilização alérgica e promovem o desenvolvimento precoce de DA extrínseca que se prolonga até à vida adulta (Marsella <i>et al.</i>, 2011). * Nem todas as alterações na expressão da filagrina são de origem genética. Citocinas produzidas por células T_{H2} inibem a expressão desta proteína cutânea (Marsella <i>et al.</i>, 2011). 	<ul style="list-style-type: none"> * A contribuição e importância clínica da filagrina na DAc continuam por esclarecer. Estudos desenvolvidos em Beagles e em West Highland white terriers não atribuíram à proteína o destaque de que é alvo em medicina humana (Marsella <i>et al.</i>, 2011; Marsella, 2013a).
Estrutura	
<ul style="list-style-type: none"> * Existe evidência da presença de mutações nos genes que codificam proteases e inibidores de proteases o que pode determinar um aumento da descamação e portanto comprometimento da barreira cutânea (Marsella <i>et al.</i>, 2011). 	<ul style="list-style-type: none"> * A epiderme de cães atópicos apresenta: aumento dos espaços intercelulares, libertação anormal de corpos lamelares, redução da espessura e desorganização das lamelas lipídicas. Estas alterações bem como as observadas ao nível da ligação do estrato córneo ao granuloso são exacerbadas pela estimulação alérgica (Marsella <i>et al.</i>, 2011). * A via de exposição alérgica percutânea é a única que se correlaciona com a gravidade dos sinais clínicos e persistência das lesões (Marsella, Nicklin, <i>et al.</i>, 2006).
Perda transepidérmica de água	
<ul style="list-style-type: none"> * Aumento da perda transepidérmica de água (PTEA) em pele lesionada ou não (Marsella & Samuelson, 2009). * Grau de desidratação e gravidade da doença estão directamente relacionados (Aalto-Korte, 1995). 	<ul style="list-style-type: none"> * Perda transepidérmica de água (PTEA) é superior em cães atópicos e está exacerbada nas áreas correspondentes à distribuição típica das lesões (Marsella & Girolomoni, 2009). * PTEA é agravada pela exposição a alérgenos sobretudo em animais jovens (Marsella & Girolomoni, 2009).

ANEXO II

TABELA 14 - Resumo das recomendações da ITFCAD para o tratamento da DAc (2010)².

TRATAMENTO SINTOMÁTICO
ANTIBIOTERAPIA
<p>O uso de antibióticos está recomendado mas não de forma sistemática. O mesmo é válido para antifúngicos. É reconhecida a capacidade que alguns agentes infecciosos, como bactérias do género <i>Staphylococcus spp.</i> e a levedura <i>Malassezia pachydermatis</i>, têm para desencadear crises em indivíduos atópicos. Assim, sempre que exista a suspeita de infecção cutânea é recomendada a realização de exames complementares (citologia) que o comprovem e isolamento e testes de sensibilidade a antibióticos nos casos mais complicados sob o risco de se desenvolverem resistências. A resposta ao tratamento deve ser monitorizada através de citologias cutâneas. A opção entre formas tópicas ou sistémicas depende, essencialmente, da extensão e gravidade das lesões (Olivry, DeBoer, <i>et al.</i>, 2010).</p> <p>De forma preventiva, deve ser incentivado o reforço da barreira cutânea e a optimização da higiene que poderão conduzir a uma menor incidência de infecções (Olivry, DeBoer, <i>et al.</i>, 2010).</p>
ANTI-HISTAMÍNICOS
<p>Os anti-histamínicos não conferem benefícios significativos, em termos de redução de prurido (Olivry, DeBoer, <i>et al.</i>, 2010). Recentemente, Eichenseer, Johansen, & Mueller (2013) chegaram à conclusão que estes fármacos podem ajudar, ainda que de forma limitada, na redução do prurido, sobretudo se associados a outras moléculas. A opção pelos anti-histamínicos permanece uma questão controversa apesar de, para os donos, eles serem uma ferramenta importante no tratamento da DAc (Dell <i>et al.</i>, 2012).</p>
CORTICOTERAPIA
<p>Utilizados na redução do prurido e lesões cutâneas, as formas tópicas de glucocorticóides estão indicadas no tratamento de crises mas não em tratamentos prolongados devido ao risco de efeitos secundários graves (Olivry, DeBoer, <i>et al.</i>, 2010), no entanto são vários os estudos que reportam a utilização do aceponato de hidrocortisona a 0,0584% de forma prolongada sem que tenham sido observados efeitos secundários (Lourenço-Martins, São-Braz, Schmidt, & Nuttall, 2012; Nuttall <i>et al.</i>, 2009, 2012). Do ponto de vista preventivo, à semelhança do que acontece no Homem, também o cão pode beneficiar da aplicação sistemática de formas tópicas de glucocorticóides. Um estudo desenvolvido com o aceponato de hidrocortisona a 0,0584% veio revelar que a aplicação, mesmo na ausência de lesões, em dois dias da semana de forma continuada permite aumentar significativamente o intervalo entre crises ao mesmo tempo que diminui a intensidade das mesmas (Lourenço-Martins <i>et al.</i>, 2012).</p> <p>Os glucocorticóides sistémicos devem ser reservados para lesões graves e/ou extensas ou quando o</p>

² Quando disponível informação pertinente mais recente a mesma foi adicionada às recomendações da ITFCAD.

animal se encontra muito desconfortável. Nestes casos, estão indicadas formas orais de prednisolona ou metilprednisolona na dose anti-inflamatória (0,5mg/Kg SID a BID e 0,2-0,5mg/Kg, BID, respectivamente) (Ramsey, 2011). As formas injectáveis de acção prolongada estão contraindicadas no manejo de crises e nas formas crónicas o seu uso deve ser restringido aos animais a que não seja possível administrar as formas orais (Olivry, DeBoer, *et al.*, 2010).

Algumas associações farmacológicas foram estudadas, na expectativa de conseguir reduzir a dose de corticosteróide. A trimeprazina, um anti-histamínico, e a prednisolona associadas são mais eficazes do que quando utilizadas em monoterapia (Olivry, DeBoer, *et al.*, 2010). Associações com ácidos gordos essenciais e com um suplemento à base de plantas demonstraram resultados semelhantes (Saevik *et al.*, 2004; Sanchez, Villanueva, Torre, & Verde, 2011; Schmidt *et al.*, 2010).

IMUNOMODELADORES

Tacrolimus a 0,1%

Indicado no tratamento de lesões localizadas. Revela-se eficaz cerca de uma semana após o início da aplicação pelo que apenas deverá ser utilizado nas formas crónicas de DAC. Uma vez controlados os sinais clínicos deverá ser reduzida a frequência de administração (Olivry, DeBoer, *et al.*, 2010).

Ciclosporina

Comprovada a sua eficácia, é recomendada a sua utilização no manejo de lesões crónicas. Deve ser utilizada uma dose inicial de 5mg/Kg, dose esta que deverá ser reduzida de forma progressiva logo que seja conseguida uma redução da sintomatologia em 50% (Olivry & Bizikova, 2013; Olivry, DeBoer, *et al.*, 2010).

É comum a associação com glucocorticóides orais durante o primeiro mês de tratamento uma vez ser este o período mínimo necessário para que os benefícios clínicos da ciclosporina sejam notados (Olivry, DeBoer, *et al.*, 2010). Um estudo recente demonstrou existir uma redução mais acentuada no grau de prurido quando é feita esta associação (Dip *et al.*, 2013). A comparação com os glucocorticóides estendeu-se às formas tópicas. Nuttall *et al.* (2012) avaliaram a eficácia da ciclosporina e do aceponato de hidrocortisona a 0,0584% no manejo de lesões crónicas de DAC. Ambos os fármacos se revelaram eficazes e bem tolerados pelo paciente não tendo sido encontradas diferenças significativas entre as duas moléculas.

Recentemente foi avaliada a eficácia de uma nova formulação de ciclosporina. A forma tópica, agora disponível, penetra a epiderme e actua a nível da derme. Sem efeitos secundários descritos nos cães que receberam o tratamento, com uma melhor adesão à terapêutica pelos proprietários, a formulação tópica de ciclosporina foi eficaz na redução do prurido e lesões graves de DAC (Puigdemont *et al.*, 2013). Cabe ao clínico, face às conclusões dos últimos estudos publicados, a escolha dos fármacos que melhor se adequem à realidade de cada paciente.

Oclacitinib

O oclacitinib é um inibidor selectivo das citocinas dependentes da Janus quinase 1 (JAK-1), cuja acção sobre as citocinas dependentes da Janus quinase 2 (JAK-2), importante para a hematopoiese, são mínimas. As enzimas JAK-1 são importantes nos fenómenos de sinalização e transdução de

muitas citocinas pró-alérgicas e pruriginosas implicadas na DAc (IL-1, IL-4, IL-6, IL-13, IL-31). O oclacitinib demonstrou ter capacidade para inibir fortemente a actividade da IL-31, recentemente associada à patogénese do prurido no cão (Cosgrove *et al.*, 2013; Gonzales *et al.*, 2013; Schindler, Levy, & Decker, 2007).

O maleato de oclacitinib demonstrou proporcionar um alívio rápido, efectivo e seguro do prurido em cães atópicos (Cosgrove *et al.*, 2013).

ANEXO III

TABELA 15 – Escala de CADESI-03.

CADESI-03® ITFCAD			#	Eritema	Liquenificação	Escoriações	Alopécia auto-induzida	SUB-TOTAL
ZONA DO CORPO								
FACE	Periauricular	1						
	Periocular	2						
	Perilabial	3						
	Focinho	4						
	Mento	5						
CABEÇA	Dorsal	6						
PAVILHÃO AURICULAR	Face convexa esquerda	7						
	Face convexa direita	8						
	Face côncava esquerda	9						
	Face côncava direita	10						
PESCOÇO	Dorsal	11						
	Ventral	12						
	Lateral esquerdo	13						
	Lateral direito	14						
AXILA	Esquerda	15						
	Direita	16						
ESTERNO	Tórax ventral	17						
TÓRAX	Dorsal	18						
	Lateral esquerdo	19						
	Lateral direito	20						
INGUINAL	Esquerda	21						
	Direita	22						
ABDÔMEN	n.a.	23	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	
LOMBAR	Dorsal	24						
FLANCO	Esquerdo	25						
	Direito	26						
MEMBRO ANTERIOR	Medial esquerdo	27						
	Medial direito	28						
	Lateral esquerda	29						
	Lateral direita	30						
	Flexor ulnar esquerdo	31						
	Flexor ulnar direito	32						
	Flexor do carpo esquerdo	33						
	Flexor do carpo direito	34						
(continua)								

TABELA 165 (CONTINUAÇÃO) – Escala de CADESI-03.

CADESI-03® ITFCAD		#	Eritema	Liquenificação	Escoriações	Alopécia auto-induzida	SUB-TOTAL
ZONA DO CORPO							
EXTREMIDADE PODAL ANTERIOR	Interdigital ventral esquerda	35					
	Interdigital ventral direita	36					
	Interdigital dorsal esquerda	37					
	Interdigital dorsal direita	38					
	Metacarpo palmar esquerdo	39					
	Metacarpo palmar direito	40					
	Metacarpo dorsal esquerdo	41					
	Metacarpo dorsal direito	42					
MEMBRO POSTERIOR	Medial esquerdo	43					
	Medial direito	44					
	Lateral esquerda	45					
	Lateral direita	46					
	Flexor do joelho esquerdo	47					
	Flexor do joelho direito	48					
	Flexor do tarso esquerdo	49					
	Flexor do tarso direito	50					
EXTREMIDADE PODAL POSTERIOR	Interdigital ventral esquerda	51					
	Interdigital ventral direita	52					
	Interdigital dorsal esquerda	53					
	Interdigital dorsal direita	54					
	Metacarpo palmar esquerdo	55					
	Metacarpo palmar direito	56					
	Metacarpo dorsal esquerdo	57					
	Metacarpo dorsal direito	58					
PERIANAL	n.a.	59	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
PERIGENITAL	n.a.	60	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
CAUDA	Ventral	61					
	Dorsal	62					
						TOTAL	

Classificação: (0) Nada (1) Ligeiro (2/3) Moderado (4/5) Grave

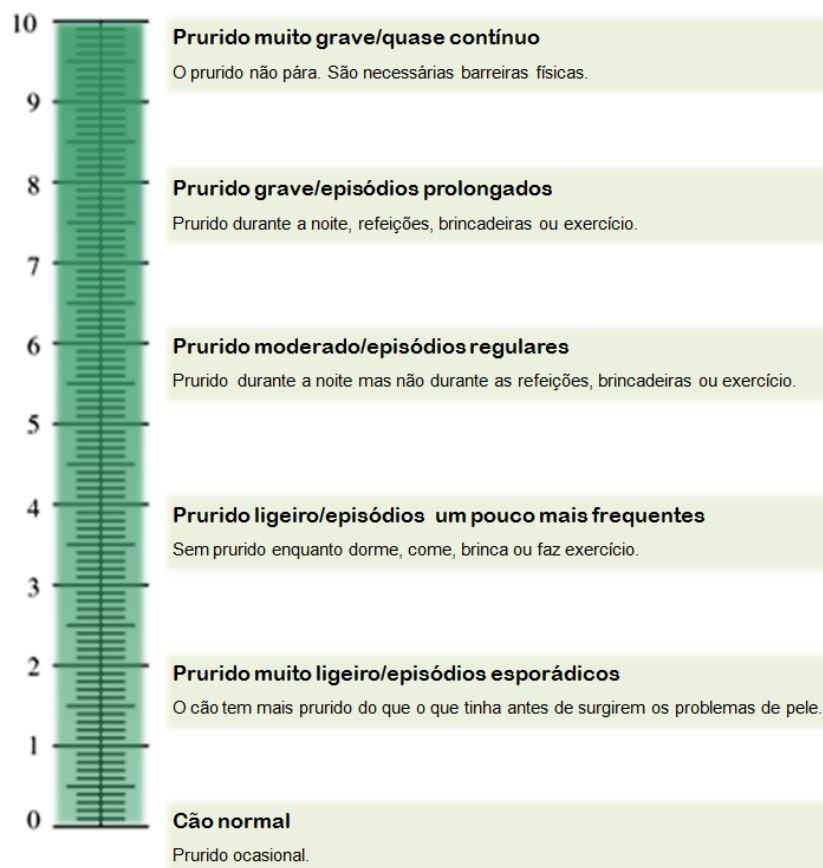
Legenda: n.a. – não se aplica

ANEXO IV

Escala Visual de Prurido

A avaliação do nível de desconforto do paciente é muito importante e a escala de prurido, devidamente validada em cães, é uma das formas mais simples e rigorosas que o clínico tem ao seu dispor. O grau de prurido pode variar entre 0 (ausência de prurido) e 10 (prurido intenso) (Rybníček, Lau-Gillard, Harvey, & Hill, 2009).

FIGURA 13 – Escala visual de prurido apresentada aos donos.



ANEXO V

TABELA 17 – Evolução da pontuação na escala modificada de CADESI-03 e grau de prurido ao longo do tempo.

n	NOME	CADESI-03			GRAU DE PRURIDO		
		t0	t1	t2	t0	t1	t2
1	Puka	63 Moderada ³	74 Moderada	43 Ligeira	8/10	8/10	5/10
2	Cookie	46 Ligeira	40 Ligeira	39 Ligeira	6/10	6/10	4/10
3	Meggy	186 Grave	171 Grave	92 Moderada	9/10	8/10	6/10
4	Bia	58 Ligeira	56 Ligeira	37 Ligeira	6/10	6/10	5/10
5	Hushi	79 Moderada	75 Moderada	52 Ligeira	7/10	6/10	4/10
6	Mila	83 Moderada	80 Moderada	67 Moderada	8/10	9/10	7/10
7	Lura	33 Ligeira	29 Ligeira	8 Remissão	10/10	9/10	7/10
8	Matilde	93 Moderada	105 Moderada	81 Moderada	8/10	9/10	3/10
9	Funk	31 Ligeira	54 Ligeira	26 Ligeira	8/10	7/10	5/10
10	Micas	141 Grave	138 Grave	----- -----	9/10	6/10	-----
11	Fred	182 Grave	72 Moderada	----- -----	9/10	4/10	-----
12	Olivia	65 Moderada	47 Ligeira	----- -----	7/10	5/10	-----
13	Thor	100 Moderada	82 Moderada	----- -----	8/10	6/10	-----
14	Bolinha	78 Moderada	55 Ligeira	----- -----	10/10	5/10	-----

³ Classificação da gravidade da DAc consoante o valor de CADESI-03. Classes utilizadas: [0-16] – Remissão; [17-60] – DAc ligeira; [61-120] – DAc moderada; [>120] – DAc grave (Olivry, Mueller, Nuttall, Favrot, & Prélaud, 2008).